



Universidad del Papaloapan

*Terra uberrima, mens aperta
Bøu Lo-tama, chí jí jú*

CAMPUS TUXTEPEC

Microorganismos aislados de afluentes contaminados de la región de Tuxtepec, Oaxaca

**TESIS BIBLIOGRÁFICA PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

PRESENTA:

Rosa Mariela Velázquez Vargas

DIRECTORA:

Dra. Leticia Guadalupe Navarro Moreno

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, 2022.



Universidad del Papaloapan

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca a 14 de Marzo del 2022

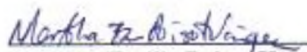
Asunto: Autorización de impresión de tesis

DR. JORGE CARLOS CONDE ACEVEDO
JEFE DE CARRERA
LICENCIATURA EN CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
P R E S E N T E


Sirva la presente para informarle que los abajo firmantes, miembros de la comisión revisora de la tesis presentada por **ROSA MARIELA VELAZQUEZ VARGAS** (Matrícula 15060341) egresado de la Licenciatura en Ciencias Químicas, manifestamos que después de examinar su trabajo de tesis autorizamos la impresión del manuscrito que lleva por título "Microorganismos aislados de afluentes contaminados de la región de Tuxtepec, Oaxaca" para su posterior presentación y defensa por parte del sustentante. El trabajo se realizó bajo la dirección de la Dra. Leticia Guadalupe Navarro Moreno (UNPA).

Sin otro asunto en particular le agradecemos la atención a la presente.

Atentamente
terra uberrima, mens aperta
BZu Lo-tama, chí jí jú



Dra. Martha Emilia Poiso Vázquez
Profesor Investigador
Universidad del Papaloapan


MED. Maibi Engracia Oviedo Sánchez
Profesora Investigadora
Universidad del Papaloapan


Dra. Hermenegilda Moreno Diaz
Profesor Investigador
Universidad del Papaloapan


M.S.P. Lina María Reyes Pérez
Profesor-Investigador
Universidad del Papaloapan




Dra. Leticia Guadalupe Navarro Moreno
Profesor Investigador
Universidad del Papaloapan

C.e.p. M. en C. Héctor López Arjona. Vice-Rector Académico de la UNPA, para su conocimiento.
C.e.p. Tesista



Universidad del Papaloapan

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca a 17 de marzo del 2022


Asunto: Autorización de impresión de tesis

Lic. Yesenia Barrientos Arenal
Jefa de Servicios Escolares
Universidad del Papaloapan
PRESENTE

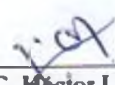
Con base en el dictamen de la comisión revisora, se autoriza la impresión del trabajo de tesis presentado por el egresado de la Licenciatura en Ciencias Químicas ROSA MARIELA VELAZQUEZ VARGAS y que lleva por título "Microorganismos aislados de afluentes contaminados de la región de Tuxtepec, Oaxaca" para su presentación y defensa por parte del egresado y así obtener el título de Licenciado en Ciencias Químicas, toda vez que cumple satisfactoriamente con la reglamentación establecida para tal fin.

Sin otro asunto en particular me despido cordialmente agradeciendo la atención a la presente.

Atentamente
terra uberrima, mens aperta
Bon Lo-tama, cbi jí jí



UNPA
Lic. Carlos Conde Acevedo
Jefe de Carrera
Lic. en Ciencias Químicas
CAMPUS TUXTEPEC



UNPA
Vo.Bo. M.C. Hector López Arjona
Vicerrector Académico
Universidad del Papaloapan
VICE-RECTORIA
ACADEMICA

UNPA
17 MAR. 2022
VICE-RECTORIA
ACADEMICA
C.c.p. Archivo

UNIVERSIDAD DEL
17 MAR. 2022
DEPARTAMENTO DE SERVICIOS
ESCOLARES CAMPUS TUXTEPEC

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la Universidad del Papaloapan para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente.

AGRADECIMIENTOS

*“Una de las cosas más importantes en la vida, no es el triunfo
sino la lucha constante y perseverante”
Inspirada en Pierre de Coubertin*

A mis padres: **Andrés Velázquez Pérez** e **Ignacia Vargas Revilla**, porque sin su apoyo, amor y consejos no lograría ni sería lo que soy hoy. A mis hermanos y hermanas: **Francisco, Estefana, Cristóbal, María Edith, Elizabeth, Juan Pablo, Andrés, Ezequiel** y **Santiago**, por apoyarme de una y mil maneras en cada etapa de mi vida y en cada una de mis metas. Gracias familia por estar ahí siempre, les estoy eternamente agradecida.

A familiares, amistades y conocidos por brindarme su apoyo, tiempo y consejos sin esperar nada a cambio en toda esta trayectoria.

A los estudiantes: **Jade, Lucero, Mirthsa, Brandon** y **Felipe** por sus trabajos que fueron esenciales para poder realizar esta tesis. Muchas gracias.

A mis revisores de tesis la enfermera **Lina María Reyes Pérez**, la Dra. **Martha Emilia Poisot Vázquez** y Dra. **Hermenegilda Moreno Díaz**, gracias por las sugerencias, su apoyo y su tiempo.

A mis jefes de carrera: Dra. **Roxana Martínez Pascual** y al Dr. **Jorge Carlos Conde Acevedo** que me apoyaron durante el proceso para mi titulación. Muchas Gracias.

A mis compañeros de la universidad: **Aldo, Cristóbal** y **Francisco** por su amistad y su apoyo tanto en lo académico como en lo personal.

A mi **electroncito** por brindarme su amistad, apoyo y escucharme en mis momentos de depresión, brindándome siempre ánimos.

A todos mis profesores de la carrera, que me compartieron sus conocimientos para mi desarrollo profesional en cada una mis clases y que me animaron siempre a mejorar aún más y seguir adelante.

A **Alexandra Asánovna Elbakián** gracias a quién fue posible tener acceso a la mayor parte de los artículos que se utilizaron en este trabajo.

Y, por último, pero no menos importante a la **Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec** por abrirme las puertas y brindarme las herramientas necesarias para mi formación como profesionista.

Dedicatoria

*Con mucho cariño y amor
a mi Familia.*

La sabiduría que el hombre no debe de olvidar

El día más bello: HOY.

El obstáculo más grande: EL MIEDO.

El mayor error: DARSE POR VENCIDO.

El más grande defecto: EL EGOÍSMO.

La mejor distracción: EL TRABAJO.

La peor bancarrota: EL DESÁNIMO.

Los mejores maestros: LOS HIJOS.

El sentimiento más vil: LA ENVIDIA.

El regalo más hermoso: EL PERDÓN.

El mayor conocimiento: DIOS.

Lo más maravilloso del mundo: EL AMOR.

La felicidad más dulce: LA PAZ.

La mejor relación: EL RESPETO.

El tesoro más grande: LA SALUD.

La mejor inversión: LA EDUCACIÓN.

La mayor satisfacción: EL SER ÚTIL.

El orgullo más grande: LA FAMILIA.

RESUMEN

El presente trabajo, se enfoca en la realización de una investigación bibliográfica acerca de diversos microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) aislados en los afluentes Laguna Lindavista, Arroyo San Jacinto, Arroyo Moctezuma, y el Río Papaloapan, de la región de Tuxtepec, Oaxaca en México. La finalidad es investigar sus características microbiológicas y bioquímicas para entender si tienen incidencia nociva o benéfica para el ser humano, los animales y las plantas, así como su potencial uso para contrarrestar problemas ambientales. Para ello se realizó una investigación bibliográfica en diferentes revistas científicas, artículos de investigación, libros, etc. (en inglés y español) en bibliotecas digitales y/o bases de datos. La información recaudada se enfocó principalmente en investigar las características microscópicas, el hábitat, el metabolismo y las características bioquímicas de cada microorganismo. Así como investigar la relación microorganismo-patología con el ser humano y los mecanismos de resistencia a agentes tóxicos como metales pesados, degradados de polietilentereftalato (PET) y antimicrobianos de cada microorganismo.

Una vez obtenida la información, este servirá para establecer protocolos de investigación relacionados con proyectos enfocados al establecimiento del uso de cepas no patógenas para el ser humano, con características bioquímicas que favorezcan su uso como agentes biorremediadores de aguas contaminadas.

Palabras clave: Agentes tóxicos, resistencia, mecanismos, polietilentereftalato (PET), antimicrobiano, patología, aplicaciones, metabolismo, toxicidad.

ABSTRACT

The present work focuses on conducting a bibliographic investigation about various microorganisms (bacteria, fungi and yeasts) isolated in the Laguna Linda Vista, Arroyo San Jacinto, Arroyo Moctezuma, and Río Papaloapan affluent, from the Tuxtepec region, Oaxaca in Mexico. The purpose is to investigate their microbiological and biochemical characteristics to understand whether they have a harmful or beneficial impact on humans, animals and plants, as well as their potential use to counteract environmental problems. For this, bibliographic research was carried out in different scientific journals, research articles, books, etc. (in English and Spanish) in digital libraries and / or databases. The information collected was mainly focused on investigating the microscopic characteristics, habitat, metabolism and biochemical characteristics of each microorganism. As well as investigating the microorganism-pathology relationship with humans and the mechanisms of resistance to toxic agents such as heavy metals, degraded polyethylene terephthalate (PET) and antimicrobials of each microorganism.

Once the information is obtained, it will serve to establish research protocols related to projects focused on the establishment of the use of non-pathogenic strains for humans, with biochemical characteristics that favor their use as bioremediation agents for contaminated waters.

Key words: Toxic agents, resistance, mechanisms, polyethylene terephthalate (PET), antimicrobial, pathology, applications, metabolism, toxicity.

Contenido

ÍNDICE DE TABLAS	10
ÍNDICE DE FIGURAS	11
ABREVIATURAS	14
CAPITULO 1.INTRODUCCIÓN	17
CAPÍTULO 2.MARCO TEÓRICO	20
Hidrología de la Cuenca del Papaloapan.	21
Contaminación de afluentes en la región de Tuxtepec, Oaxaca.....	23
Laguna Linda Vista.	24
Arroyo San Jacinto	24
Arroyo Moctezuma.	25
Río Papaloapan.	27
Consecuencias de la contaminación en la flora y fauna de los mantos acuíferos.	29
Efecto de los contaminantes en el fitoplancton que conforma los mantos acuíferos.....	32
Efecto de los contaminantes en microorganismos acuáticos.....	35
Efecto de contaminantes en microorganismos en general.	37
Mecanismos de defensa de los microorganismos contra agentes contaminantes	41
Microorganismos aislados en la Región de Tuxtepec, Oaxaca.	46
Microorganismos asilados de afluentes contaminados de la región de Tuxtepec, Oaxaca.	47
CAPÍTULO 3.OBJETIVOS.....	48
OBJETIVO GENERAL	49
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	49
CAPÍTULO 4.METODOLOGÍA	50
CAPÍTULO 5.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
BACTERIAS	56
LEVADURAS.....	77
HONGOS	87
CAPÍTULO 6.CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	139
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	143

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Mecanismos de resistencia de microorganismos vivos hacia iones de metales pesados.

Tabla 2. Fuentes de donde se aislaron los microorganismos.

Tabla 3. Microorganismos resistentes a agentes tóxicos.

Tabla 4. Características microbiológicas y clínicas presentes en *B. pumilus* y *B. anthracis*.

Tabla 5. β -lactamasas de espectro extendido presentes en *Pseudomonas aeruginos*.

Tabla 6. Descripción de las características macroscópicas y microscópicas de especies de *Rhodotorula*.

Tabla 7. Características de los microorganismos implicados en esta investigación.

Tabla 8. Patologías que generan los microorganismos en el ser humano.

Tabla 9. Microorganismos que ocasionan daño a animales y plantas

Tabla 10. Microorganismos que contrarrestan problemas ambientales.

Tabla 11. Microorganismos que producen metabolitos que proporcionan beneficios al ser humano.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Subcuencas de la cuenca hidrológica del Papaloapan.

Figura 2. Hidrografía general de la región del Papaloapan.

Figura 3. Laguna Linda vista.

Figura 4. Arroyo San Jacinto

Figura 5. Ubicación del Arroyo Moctezuma.

Figura 6. Contaminación del Arroyo Moctezuma.

Figura 7. El Río Papaloapan ubicado al sur oeste de México.

Figura 8. Contaminación del Río Papaloapan.

Figura 9. El agua subterránea como parte del ciclo hidrológico y la contaminación de los acuíferos por lixiviado de residuos sólidos depositados en la superficie.

Figura 10. Algas diatomeas que forman parte de las floraciones nocivas de microalgas. a) *Hyalodiscus cf. scoticus*. b) *Lyrella clavata fo. granulata*.

Figura 11. Transporte y toxicidad del cromato en la célula bacteriana.

Figura 12. Vías propuestas de desintoxicación de microorganismos hacia iones de metales pesados.

Figura 13. Resistencias metálicas y metaloides determinados por transporte.

Figura 14. Resistencias metálicas y metaloides mediados por reducción.

Figura 15. Características microscópicas de *H. alvei*

Figura 16. Características bioquímicas que presenta *H. alvei*

Figura 17. *B. pumilus* observado mediante microscopio óptico

Figura 18. Características macroscópicas y microscópicas de *B. pumilus*

Figure 19. Patogenicidad de la cepa GR8 de *B. pumilus* en el rizoma del jengibre

Figura 20. Compuestos antifúngicos producidos por *B. pumilus*

Figura 21. Vía metabólica propuesta del isoeugenol de la cepa S-1 de *B. pumilus*

Figura 22. Características bioquímicas que presenta *P. aeruginosa*

Figura 23. Electromicrografías de *P. aeruginosa* obtenidas por Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM, 60 000x)

Figura 24. Electromicrografías de *P. aeruginosa* obtenidas por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, 60 000x)

Figura 25. Efecto de los biotensoactivos en la biodegradación de contaminantes en suelos y sedimentos (Jiménez, et al., 2010)

Figura 26. Morfología de *C. parapsilosis*.

Figura 27. Características macroscópicas y microscópicas de *C. parapsilosis*.

Figura 28. Diferentes morfologías coloniales obtenidas a partir de un aislado clínico de *C. parapsilosis*

Figura 29. Colonias en agar Sabouraud y tinción de levaduras del género *Rhodotorula*

Figura 30. Características macroscópicas y microscópicas de las especies de *Rhodotorula*.

Figura 31. Características microbiológicas de *Acremonium moniliforme*.

Figura 32. Conidios semilunares no septados, conidióforos y microconidios de *Acremonium*.

Figura 33. Estructuras de acremonidinas A-E (1-5).

Figura 34. Estructura química de la acremoxantonas A y B.

Figura 35. Característica macroscópica y microscópica de *A. flavus*.

Figura 36. Morfología de *A. flavus* a través de SEM.

Figura 37. Infección de un paciente con leucemia mielógena aguda y aspergilosis cutánea primaria.

Figura 38. Características macroscópicas y microscópicas de *A. niger*.

Figura 39. Morfología de *A. niger* visto desde un SEM.

Figura 40. Compartimentación metabólica de la formación de oxalacetato y su papel en la acumulación de ácido cítrico.

Figura 41. Características macroscópicas y microscópicas de *Fusarium sp.*

Figura 42. Morfología de macroconidios y microconidios de las tres especies de *Fusarium* patogénicas de sandía.

Figura 43. Morfología de clamidosporas y células conidiógenas de especies del género *Fusarium*.

Figura 44. Vía propuesta para la degradación de 4-clorofenol por *Fusarium sp*

Figura 45. Vías conocidas para el catabolismo de salicilatos en hongos y/o bacterias

Figura 46. Características macroscópicas y microscópicas de *P. lilacinum*

Figura 47. Morfología de *P. lilacinus* visto a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) en condiciones aerobio y anaerobio

Figura 48. Características macroscópicas y microscópicas de *P. citrinum*

Figura 49. *Meloidogyne incognita*

Figura 50. Morfología macroscópica y microscópica de *P. citrinum* visto a través del SEM

Figura 51. Morfología colonial y microscópica de *T. xishaensis*

ABREVIATURAS

%: Porcentaje

·OH: Radical hidroxilo

ADN: Ácido desoxirribonucleico

Ag: Plata

Ag⁺: Ion plata

As: Arsénico

As³⁺: Ion arsénico (III)

As⁵⁺: Ion arsénico (V)

Au: Oro

Ca: Calcio

Cd: Cadmio

Cd²⁺: Ion cadmio (II)

CIM: Concentración mínima inhibitoria

cm³: Centímetros cúbicos

Co: Cobalto

CO₂: Dióxido de carbono

Co²⁺: Ion cobalto (II)

CodelPa: Comisión del Papaloapan

CONAGUA: Comisión Nacional del Agua

COP: contaminantes orgánicos persistentes

Cr: Cromo

Cr³⁺: Ion cromo (III)

Cr⁶⁺: Ion cromo (VI)

CrO₄⁻²: Cromato

Cu: Cobre

Cu⁺: Ion cobre (I)

Cu²⁺: Ion cobre (II)

EPA: Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos

EPS: Sustancias poliméricas extracelulares

ERO: Especies reactivas de oxígeno

Fe²⁺: Ion hierro (II)

g: Gramos

H₂O₂: Peróxido de hidrogeno

H₂S: Sulfuro de hidrogeno

ha: Hectáreas

HAPs: Hidrocarburos aromáticos policíclicos

Hg: Mercurio

Hg⁰: Mercurio elemental

Hg²⁺: Ion mercurio (II)

IARC: Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer

IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social

K: Potasio

Km²: Kilómetros al cuadrado

Mg: Magnesio

Mg²⁺: Ion magnesio

mM: milimolar

Mn: Manganeso

Mo: Molibdeno

MS: Espectrometría de masas

NA: Agar nutritivo

NH₃: Amoniac

Ni: Níquel

Ni²⁺: Ion niquel (II)

Pb (C₂H₃O₂)₂: Acetato de plomo

Pb: Plomo

PET: Polietilentereftalato

pH: Potencial de hidrógeno

RH28: Región Hidrológica 28

RMN: Resonancia magnética nuclear

Sb³⁺: Ion antimonio (III)

Se: Selenio

SEM: Microscopía electrónica de barrido

Sn: Estaño

SO₄⁻²: Ion sulfato

Sr: Estroncio

TEM: Microscopía electrónica de transmisión

U: Uranio

Zn: Zinc

Zn²⁺: Ion zinc

μm: Micrómetro

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

La región de Tuxtepec, localizada en el estado de Oaxaca, posee una gran cantidad de recursos hídricos, debido a que se encuentra en una de las cuencas hidrológicas más importantes del país, el Río Papaloapan. Gracias a la capacidad de este, la región entera posee numerosos manantiales y ojos de agua provenientes de las Sierras Madre del Sur y Juárez. Sin embargo, el crecimiento poblacional y el desarrollo en la región, como el caso de Tuxtepec, que se ha convertido en la segunda ciudad más poblada y el principal núcleo económico de Oaxaca, ha favorecido el fenómeno de la contaminación del río Papaloapan, principalmente por residuos de tipo urbano, industrial y agrícola. De la misma manera, este hecho se ve enriquecido por el papel de otras aguas que se distribuyen en la región, las cuales han sido reportadas con un alto grado de contaminación, presentando alcalinidad, elevada temperatura, presencia de metales pesados (como el Cd, Pb, entre otros), sólidos (papel, vidrio, plástico) y otras sustancias tóxicas (como agroquímicos). Lo anterior ha generado, principalmente, problemas de salud, proliferación de agentes patógenos y pérdida de la biodiversidad de flora y fauna. Tal es el caso del Arroyo Moctezuma y la Laguna Linda Vista, que también reciben el desagüe de aguas residuales, desechos contaminantes y residuos de sectores Industriales.

La Comisión Estatal del Agua (CONAGUA), ha alertado sobre la contaminación del agua en la Cuenca del Papaloapan a través de un estudio técnico de las aguas nacionales superficiales en 16 cuencas hidrológicas, que comprenden la Región Número 28 Papaloapan. En sus estudios se ha encontrado la presencia principalmente de agroquímicos, metales pesados y coliformes. Además, en trabajos realizados por estudiantes de la Universidad del Papaloapan (UNPA), Campus Tuxtepec, se han aislado microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) en estos efluentes, los cuales siguen siendo estudiados en dicha institución. De acuerdo con los reportes de literatura, se sabe que estos microorganismos pueden ser patológicos y/o tóxicos, tanto para el ser humano como para animales y plantas. También, se ha reportado la resistencia de algunos de ellos a diversos agentes antimicrobianos de uso constante e inclusive a antimicrobianos de última línea de defensa, lo que resulta muy alarmante. Aunado a lo anterior también hay estudios donde se ha demostrado la aplicación de algunos de estos microorganismos para contrarrestar algunos problemas ambientales.

De acuerdo con lo anterior, en el presente trabajo, se realizó una revisión bibliográfica sobre los aspectos microbiológicos y bioquímicos de los microorganismos aislados en los afluentes: Laguna Linda Vista, Arroyo San Jacinto, Arroyo Moctezuma, y el Río Papaloapan, de la región de Tuxtepec, Oaxaca, con el objetivo de conocer sus características e intuir si estos pueden ser nocivos o benéficos para el ser humano y el ambiente. Por lo que es importante estudiarlos con dos finalidades, la primera es en relación con los seres humanos y la segunda, como microorganismos con posible potencial de biorremediación de aguas

contaminadas. Cabe mencionar que, los microorganismos que se han podido aislar, hasta el momento, no han sido reportados como microorganismos presentes en esta zona del estado de Oaxaca.

La información que se obtendrá al realizar este trabajo de investigación bibliográfica servirá para conocer las características microbiológicas, ecológicas, bioquímicas y patológicas de cada cepa de microorganismos. Además, esta información podrá ayudar a establecer protocolos de investigación relacionados con proyectos enfocados al establecimiento del uso de cepas no patógenas para el ser humano, con características bioquímicas que favorezcan su uso como agentes biorremediadores.

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

Hidrología de la Cuenca del Papaloapan.

La cuenca del río Papaloapan (perteneciente a la Región Hidrológica 28 Papaloapan), se encuentra geográficamente entre 16°55' y 19°03' latitud norte, y 94°40' y 97°48' longitud oeste. De acuerdo con la CONAGUA, la RH28 Papaloapan comprende 18 cuencas hidrológicas. Tiene un área aproximada de 46,517 Km², distribuida porcentualmente en los estados de Oaxaca (51%), Veracruz (37%) y Puebla (12%). De los 46,517 Km² que constituyen la cuenca, aproximadamente el 45% corresponde a terrenos planos y ondulados de la planicie costera y el resto (55%) están constituidos por la zona montañosa y quebradas de las sierras, con excepción de los pequeños Valles de la Cañada y la Mixteca, que representan el 1% de la superficie total (Díaz *et al.*, 2005; Diario Oficial de la Federación, 2015).

Desde el punto de vista topográfico, los terrenos de la cuenca del Papaloapan pueden clasificarse, aproximadamente, de la siguiente manera: 2,300 Km² de lagunas, ríos y pantanos; 18,300 Km² de planicie con pendientes menores del 10%; 10,600 Km² de ladera con pendiente entre 10% y 25%, y 15,300 Km² de montaña con pendientes mayores del 25%. El sistema fluvial del río Papaloapan es el de mayor importancia en el país por su caudal, después del sistema Grijalva-Usumacinta. Su escurrimiento medio anual es aproximadamente de 47,000 millones de metros cúbicos, vertiendo sus aguas al Golfo de México en el estado de Veracruz (Díaz *et al.*, 2010).

Se describen a continuación sus principales efluentes que se muestran en la figura 1.

El **Río Blanco** nace en la Sierra de Zongolica en las faldas del Pico de Orizaba y desemboca directamente a la laguna de Alvarado. En sus márgenes se desarrolló la primera zona industrial de la cuenca ya que cruza las ciudades de Córdoba y Orizaba.

El **Río Tonto** tiene su origen en las estribaciones de la Sierra Mazateca y es el efluente más importante. Debido a que su cuenca está situada en la zona de alta precipitación, a pesar de su pequeña extensión, produce aproximadamente el 20% del volumen medio anual que descarga el Río Papaloapan, el cual desemboca en Alvarado situando en el sur del estado de Veracruz. Por las características de su cauce, es un río maduro, sus aguas llevan el porcentaje más mínimo de azolves del sistema fluvial, debido a que la mayor parte de la cuenca está cubierta de vegetación.

El **Río Salado** que drena el valle poblano-oaxaqueño y la Alta Mixteca, tiene la subcuenca más árida y deforestada del sistema fluvial, produciendo por esta razón más del 60% de los azolves que llegan al Río Papaloapan. En Quiotepec se une al **Río Grande** que irriga a la Sierra de Juárez y las estribaciones de la Sierra oaxaqueña, formando entre los dos el **Río Santo Domingo**, el cual fluye por el cañón del mismo

nombre, uniéndose, aguas abajo, con el cauce principal del Río Papaloapan después de recibir las aportaciones de los **Ríos Playa Vicente y Valle Nacional** y por la izquierda al **Río Tonto**.

Cerca de su desembocadura, el Río Papaloapan recibe las aportaciones de los dos efluentes meridionales más importantes: el **Río Tesechoacán** y el de **San Juan**, que bajan de los montes del nudo de Zempoaltépetl. Después de su confluencia con el Río San Juan, el Papaloapan fluye en dirección norte, en cuyo recorrido recibe (margen izquierdo) las aportaciones de la **Laguna de Alvarado**, desembocando en el **Golfo de México** a través del mismo (Díaz *et al.*, 2005; Díaz *et al.*, 2010; Diario Oficial de la Federación, 2015).

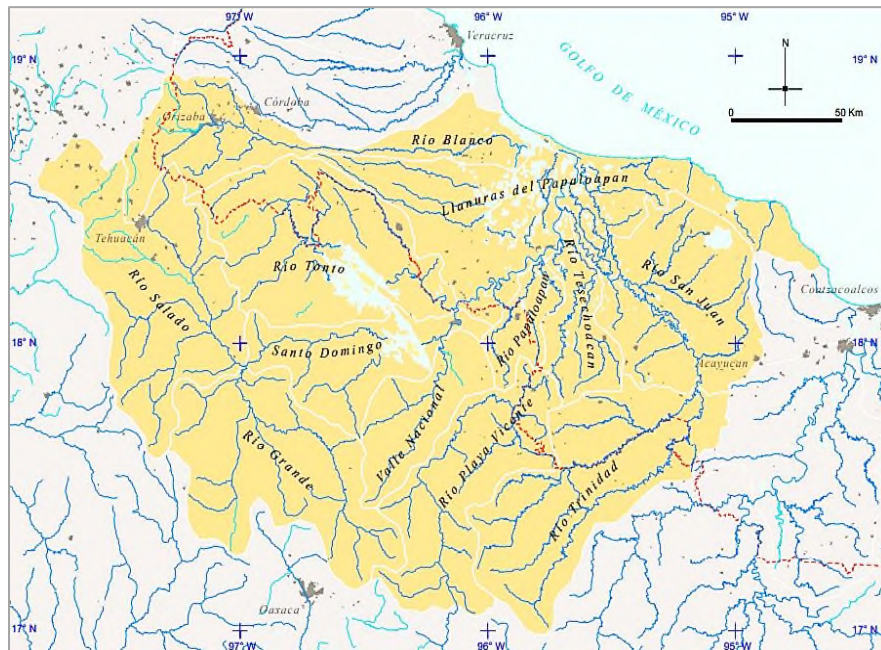


Figura 1. Subcuencas de la cuenca hidrológica del Papaloapan (Díaz *et al.*, 2010).

La cuenca del Río Papaloapan, que se muestra en la figura 2, cuenta con abundantes recursos naturales. Entre ellas, tierras para la agricultura y la ganadería; corrientes que pueden ser aprovechadas para riego y para aprovechamiento hidráulico; extensos bosques y selvas exuberantes. El subsuelo contiene mantos petrolíferos y en la zona montañosa existe una gran variedad de minerales metálicos y no metálicos. Como parte del programa de desarrollo integral de la cuenca del Papaloapan, la CodelPa (26 de febrero 1947 al 4 de noviembre de 1986), realizó distintas obras aprovechando los recursos de la región. Entre ellos destacaron la presa de Miguel Alemán Valdez (presa Temascal, Oaxaca) y Miguel de la Madrid (presa Cerro de Oro). La **presa de Miguel Alemán Valdez** se localiza sobre el **Río Tonto**, en el sitio denominado Temascal, tiene una capacidad de almacenamiento de 8,000 millones de metros cúbicos, siendo la segunda más grande del país después de la presa La Angostura, localizada en Chiapas sobre el Río Grijalva.

Fue construido principalmente con la finalidad de controlar las avenidas del Río Tonto, generar energía hidroeléctrica, mejorar la navegación del Río Papaloapan y para control de azolves. Entre la década de los sesenta y ochenta se construyó la **presa Miguel de la Madrid**, sobre el **Río Santo Domingo**, aguas debajo de su confluencia con el Río Usila, con la finalidad de generar energía hidroeléctrica, controlar avenidas y azolve que arrastra el Río Santo Domingo, el cual representa el 60% del total de agua que transporta el Río Papaloapan. La capacidad de almacenamiento de esta presa es de 5,380 millones de metros cúbicos, la tercera más grande del país (Gonzales, 2012; Pereyra *et al.*, 2005). En la sabana de la planicie costera se encuentra el Río Blanco. En ese lugar Joachín y Piedras Negras cubren una superficie de 30,000 ha. En la subcuenca del Río Salado, uno de los principales afluentes del Río Santo Domingo, se ha construido una serie de presas derivadoras y canales que permiten aprovecharlo para el riego (Díaz *et al.*, 2005).

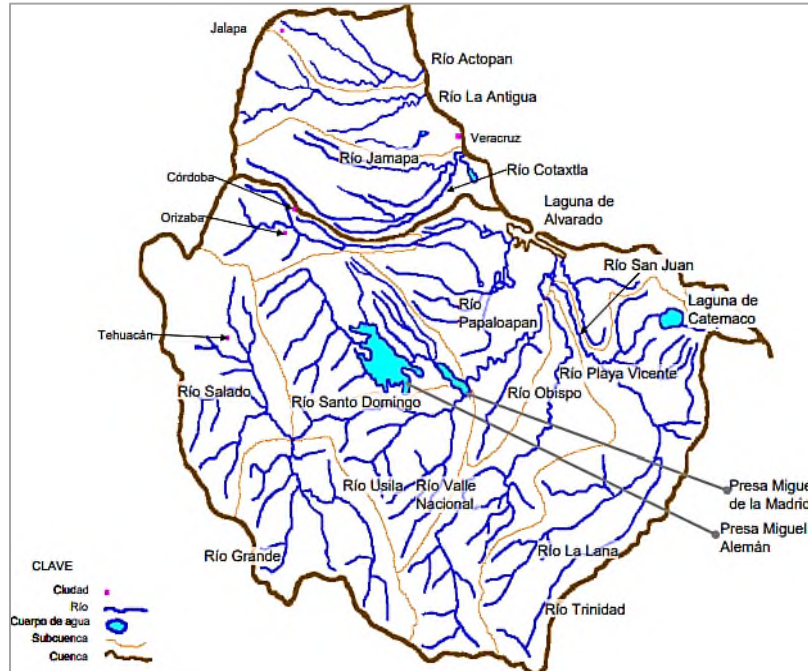


Figura 2. Hidrografía general de la región del Papaloapan (Diario Oficial de la Federación, 2015).

Contaminación de afluentes en la región de Tuxtepec, Oaxaca.

La región de Tuxtepec, Oaxaca posee numerosos manantiales y ojos de aguas, todos provenientes de las Sierras Madre del Sur y Juárez. La mayoría de estas aguas actualmente sufren un estado de contaminación elevado pues presentan alcalinidad, elevada temperatura, presencia de metales pesados (como el Cd, Pb, entre otros), sólidos (papel, vidrio, plástico, etc.) y otras sustancias tóxicas (como agroquímicos). Lo

anterior genera, principalmente, problemas de salud, proliferación de agentes patógenos y pérdida de la biodiversidad de flora y fauna (Oaxaca, Tuxtepec, 2020; Soler, 2020; Sosa, 2020; Wikipedia, 2020a).

Este es el caso de la Laguna Linda Vista, Arroyo San Jacinto, Arroyo Moctezuma, y el Río Papaloapan, descritas a continuación por ser las fuentes de aislamiento de los microorganismos a los que está enfocado este trabajo.

Laguna Linda Vista.

Esta laguna, se ubica en la colonia Linda Vista ($18^{\circ}03'04.6''N$ $96^{\circ}08'14.7''E$) en San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca (Figura 3 a). Tiene una longitud de al menos 400 m de longitud, y presenta una variedad de flora y fauna. Sus aguas son utilizadas en riego de cultivos aledaños, así como en la reproducción de peces y los ganaderos de la zona cercana a este afluente dan de tomar agua a su ganado. Sin embargo, se ha reportado contaminada por desechos y residuos de diversa naturaleza, provenientes de los habitantes de la colonia principalmente. Debido a lo anterior en la figura 3 b se puede observar su mal aspecto (Bustos, 2020; Vázquez-Velasco, 2022).

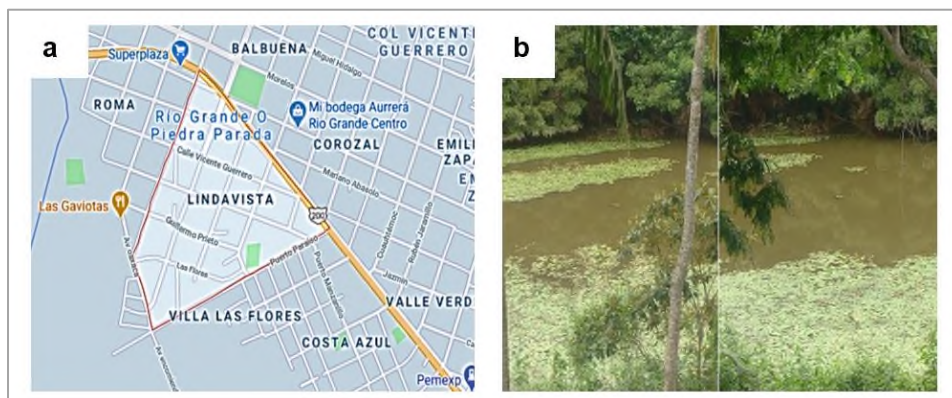


Figura 3. Laguna Linda Vista (Bustos, 2020).

Arroyo San Jacinto

Este arroyo se ubica en la colonia Moderna, sección el manguito (Figura 4 a), perteneciente al municipio de San Juan Bautista Tuxtepec en el estado de Oaxaca ($18^{\circ}03'44.5''N$ $96^{\circ}08'39.0''E$), cuenta con una extensión de al menos 10 km. A las laderas se ubican aproximadamente 250 familias que cada año resultan afectadas por el crecimiento del arroyo debido a las fuertes lluvias que azotan a la región en los meses de junio y julio. Se ha informado que el arroyo es utilizado como canal de aguas negras, por lo que su

desborde es un peligro en el tema de salud para los habitantes que viven cerca de este afluente (Figura 4 b) (Vázquez-Velasco, 2022).



Figura 4. Arroyo San Jacinto (El universal, 2012).

Arroyo Moctezuma.

Este arroyo se encuentra ubicado en la ciudad de San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca. Su nombre le fue asignado a raíz del vínculo que tiene con la historia de la región. Se dice que el Huey Tlatoani Moctezuma Ilhuicamina gustaba de bañarse en este arroyo, dado que este era hermoso y disfrutaba de su flora y fauna. Su predilección por el arroyo hizo que la gente le asignara el nombre, con el que es actualmente conocido: “Arroyo Moctezuma” (Paredes, 2020). La figura 4 muestra su localización.

Sin embargo, desde el 2016, se ha reportado que en el llegan 486 descargas clandestinas de aguas negras y 17 descargas municipales. Situación que ha ido empeorando con el tiempo y que no favorece a la mejora de la contaminación del Rio Papaloapan. Las descargas incluyen los **arroyos contaminados como el Apompan, San Antonio, El Piñal**, que desembocan al arroyo de aguas negras a cielo abierto de la colonia Jardines del Arroyo donde se conectan El Sureste 1 y 2, El Nanche, El Castillo, Grajales, Oaxaca y La Piragua, y que desemboca en el Arroyo Moctezuma en la calle Reforma (Oaxaca, Tuxtepec, 2020; Torres, 2020).

Se ha comprobado que los ciudadanos de las colonias cercanas vierten sus desechos directamente al arroyo y lo utilizan para descargar aguas negras. Lo anterior se muestra en la figura 5 b y 5 d. Esto ha generado problemas de salud como infecciones intestinales. También se ha informado, que el sector de salud de la Unidad de Medicina Familiar número 64 del IMSS, vierte sus residuos en este arroyo. Poniendo en riesgo la salud de todo el poblado de la región.

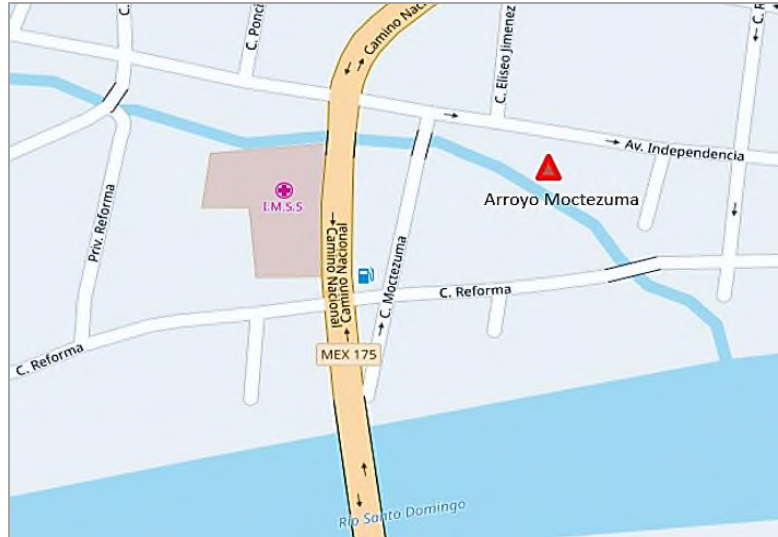


Figura 5. Ubicación del Arroyo Moctezuma (Paredes, 2020).

En la figura 6 se muestra el estado del efluente (El Universal, Oaxaca, 2020; Paz, 2020; Soler, 2020). Actualmente las autoridades municipales y los ciudadanos de San Juan Bautista Tuxtepec, están diseñando estrategias tendientes a ayudar a resolver esta problemática (Oaxaca, Tuxtepec, 2020; Soler, 2020; Torres, 2020).



Figura 6. Contaminación del Arroyo Moctezuma. a) Recorrido del efluente cerca del IMSS. b) Desechos urbanos. c) Iguana que habita cerca del Puente Moctezuma. d) Recorrido del efluente en la colonia Jardines del Arroyo (El Universal, Oaxaca, 2020; Soler, 2020).

Río Papaloapan.

El río Papaloapan nace en la ciudad de San Juan Bautista Tuxtepec al suroeste de México ($18^{\circ}01'53''N$ $96^{\circ}11'06''O$), en el estado de Oaxaca y desemboca en el Golfo de México en el estado de Veracruz a través de la laguna de Alvarado (Figura 7). Su nombre proviene del náhuatl de *Papalotl*, «mariposa» y *apan*, «lugar de», que significa «en el río de las mariposas». Es la segunda cuenca hidrológica más grande de México, pues cuenta con aproximadamente 354 Km de longitud y desemboca en el Golfo de México, a 130 Km de Tuxtepec. A su paso recorre principalmente las ciudades de San Juan Bautista Tuxtepec Oaxaca, Otatitlán, Tuxtilla, Tlacojalpan, Chacaltianguis, Cosamaloapan, Tlacotalpan y Alvarado. En sus orillas habitan personas de tres estados: Puebla, Oaxaca y Veracruz. Se abastece de otros ríos, como el río Tonto, el río Valle Nacional y el río Santo Domingo. En toda su extensión tiene una gran biodiversidad de flora y fauna, además de grandes tierras fértiles. Cuenta con un clima cálido-húmedo, factores propicios para el desarrollo de la agricultura, ganadería, pesca y la industria azucarera en la región. Anteriormente el río Papaloapan tuvo gran importancia como medio de transporte en el sureste de México (por lo que sus poblaciones más importantes sean ribereñas), pero los cambios ecológicos hicieron que el río se ensanchara y su fondo se elevara a grandes niveles, ocasionando que el río dejara de ser navegable (Ríos del planeta, 2020; Sosa, 2020, Wikipedia, 2020b).

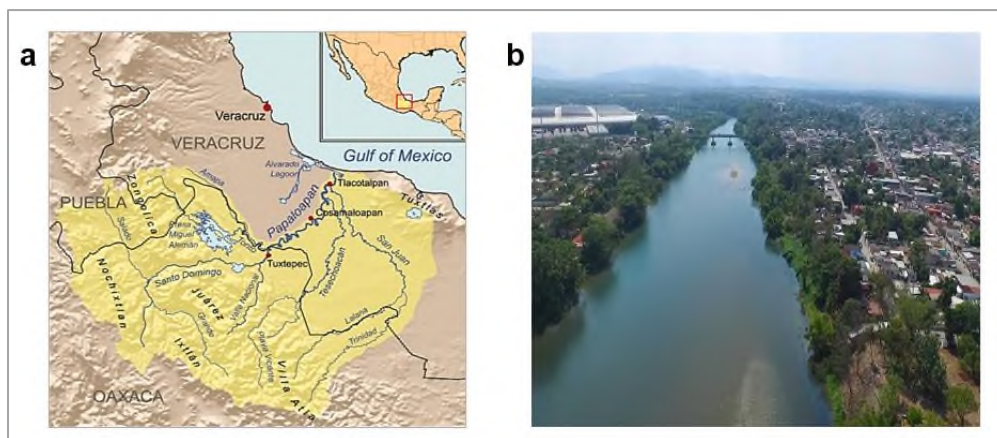


Figura 7. El Río Papaloapan ubicado al suroeste de México (Ríos del planeta, 2020).

Actualmente el crecimiento poblacional y el desarrollo en la región, como en el caso de Tuxtepec, que se ha convertido en la segunda ciudad más poblada y principal núcleo económico de Oaxaca, ha favorecido la contaminación del río Papaloapan por los residuos urbano, industrial y agrícola. El río Papaloapan recibe a su paso el desagüe de aguas residuales, desechos contaminantes domésticos y los residuos de otros

sectores industriales. Principalmente descargas tóxicas de una industria cervecera, una alcoholera, ingenios azucareros, una fábrica de papel, una procesadora de piña (en su cruce con la laguna Plan de los Pájaros de Loma Bonita) y el más alarmante es la de una Industria Petrolera (en su cruce con el Río Tonto). Al recibir estos residuos altamente tóxicos se ha observado la alta mortandad de la flora y fauna, afectando principalmente a los pescadores de la región. Lo anterior se muestra en la figura 8 (Maya *et al.*, 2011; Paz, 2020; Ríos del planeta, 2020; Sosa, 2020; Wikipedia, 2020b).

Ante esta situación alarmante, sobre la contaminación del río Papaloapan, en julio del 2012 un grupo de 34 ciudadanos organizados de Tuxtepec interpusieron un amparo colectivo contra el ayuntamiento local por “*omisión de proporcionar tratamiento de aguas residuales*”, el cual se presentó ante el Juez Tercero de Distrito en Materia Mixta en Oaxaca, en la capital del estado. El abogado del caso, Samuel Aguilera Vázquez, explicó que durante el proceso legal se obtuvieron pruebas periciales por parte de la Procuraduría General de la República, donde señalaron el grave estado físico del efluente. Para la realización de las pruebas bioquímicas se extrajeron muestras de agua en distintos puntos, antes y después, en las zonas donde se localizaron las descargas de los desechos industriales y urbanos.

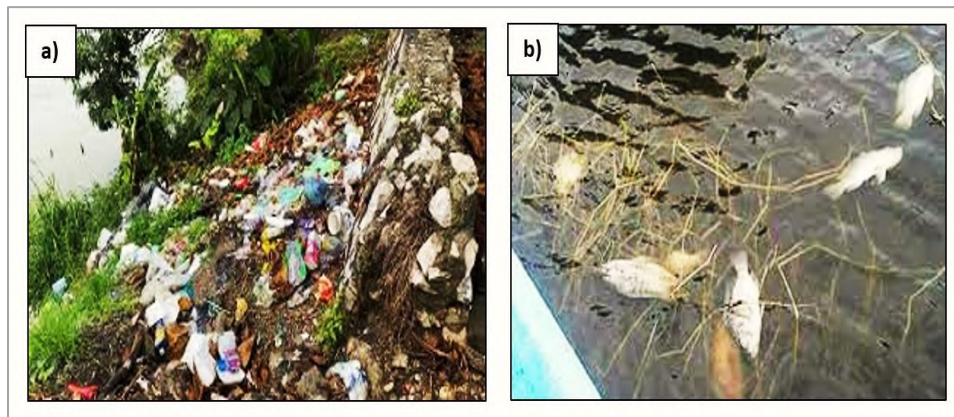


Figura 8. Contaminación del Río Papaloapan (Ríos del planeta, 2020; Sosa, 2020).

El dictamen final, aseguró Aguilera Vázquez, fue que “*el agua del río Papaloapan no sirve para beber, bañarse, lavar, ni para que la beban los animales. Es tan peligrosa que ni siquiera es recomendable para navegar*”. El abogado detalló que después de las descargas las aguas del río contienen Cd, Pb, Hg y bacterias relacionadas a las heces fecales. También se analizaron los peces y se encontró que en sus branquias, escamas y vísceras había coliformes, un indicador de contaminación del agua. La demanda no tuvo éxito, ya que el juez federal, en el año 2015, determinó que era improcedente. Sin embargo, este suceso sirvió para alentar a la CONAGUA, sobre el grave problema de contaminación del Río Papaloapan

peces (Caiceros, 2019; Sosa, 2020). Por lo que, en el 2018, la CONAGUA alertó sobre la contaminación de la Cuenca del Papaloapan a través de un estudio técnico de las aguas nacionales superficiales en 16 cuencas hidrológicas, que comprendieron la RH28 Papaloapan. En este estudio se encontró la presencia de agroquímicos, metales pesados y coliformes. La CONAGUA señaló, además, la necesidad de profundizar en los estudios sobre la relación de la calidad del agua, la salud de los ecosistemas y la salud de los pobladores. Sin embargo, hasta la fecha no se ha logrado resolver esta problemática (Sánchez, 2020).

Consecuencias de la contaminación en la flora y fauna de los mantos acuíferos.

Un acuífero es un volumen subterráneo de roca y arena que contiene agua. El agua subterránea que se halla almacenada en los acuíferos es una parte importante del ciclo hidrológico. Este ciclo consiste en el movimiento continuo de agua entre la atmósfera y la tierra a través de la evaporación y la precipitación. Así, parte de esta agua que cae a través de precipitaciones y nieve vuelve a los lagos, ríos, arroyos y océanos; pero otra es absorbida por las plantas, estas a su vez transpiran nuevamente el agua hacia la atmósfera. De esta manera, el agua que no se evapora de manera directa de los lagos y ríos o que es transpirada por los vegetales, se filtra a través del subsuelo y pasa a formar los acuíferos subterráneos. Se ha determinado que cerca del 30 % de los caudales de la superficie provienen de fuentes de agua subterránea (Ordoñez, 2011, M.F, 2020). La figura 8 muestra lo anterior. Sin embargo, la disponibilidad del agua en cuanto a su cantidad y calidad, ha sido gravemente afectada por diversos factores, como la sobreexplotación de acuíferos, el vertimiento de sustancias contaminantes a los cuerpos de agua, los cambios en el uso del suelo tales como la deforestación, las prácticas agrícolas inadecuadas y el incremento de urbanizaciones en zonas de producción hídrica, entre otros (Li *et al.*, 2021; Manahan, 2007).

En el caso de los contaminantes, estos pueden ser vertidos directamente al agua o pueden entrar en ella por la atmósfera o mediante escorrentía desde el suelo. Por lo que, debe ser considerada la contaminación tanto del agua superficial como el agua subterránea. Entre los principales contaminantes se encuentran los sitios de disposición subterránea de desechos químicos, biológicos, industriales, municipales, agrícolas, radiactivos de baja actividad y la inyección en pozos profundos de sustancias químicas tóxicas. Además de las fugas de los tanques usados como almacenamientos subterráneos de compuestos químicos líquidos y combustibles. Estas fuentes agregan pesticidas, metales pesados, aceite, productos derivados del petróleo y una gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos al agua (Li *et al.*, 2021; Manahan, 2007; Piver, 1992; Walsh 2006).

El agua subterránea puede recoger los contaminantes desde el agua superficial contaminada que fluye de la superficie, a los acuíferos subterráneos, como parte del proceso de recarga a través del ciclo hidrológico o mediante el lixiviado de residuos que han sido evacuados inadecuadamente en la superficie o en los vertederos. La figura 9 muestra parte del proceso. Los productos químicos particularmente solubles (hidrófilos) tienen una fuerte tendencia a quedar disueltos en el agua y a moverse con el flujo del agua superficial o subterránea. Las especies más hidrófobas en el agua tendrán una tendencia mayor a ser retenidos en las superficies minerales (en el agua subterránea) o en los sedimentos (en el agua superficial) (Li *et al.*, 2021; Piver, 1992).

La contaminación de los acuíferos genera la alteración de las propiedades físicas y químicas del agua, así como de su biodiversidad, debido a la acción de procesos naturales o artificiales que producen resultados indeseables. Las características físicas más alteradas son: temperatura, pH, turbidez, olor y color. Por otro lado, las características químicas que sufren cambios son como: los sólidos totales disueltos, el tipo y la concentración aniónica y catiónica y la presencia de otros compuestos solubles, etc. Dentro de las alteraciones biológicas se encuentra la introducción de nuevos organismos y/o la eliminación de los existentes (Auge, 2004).

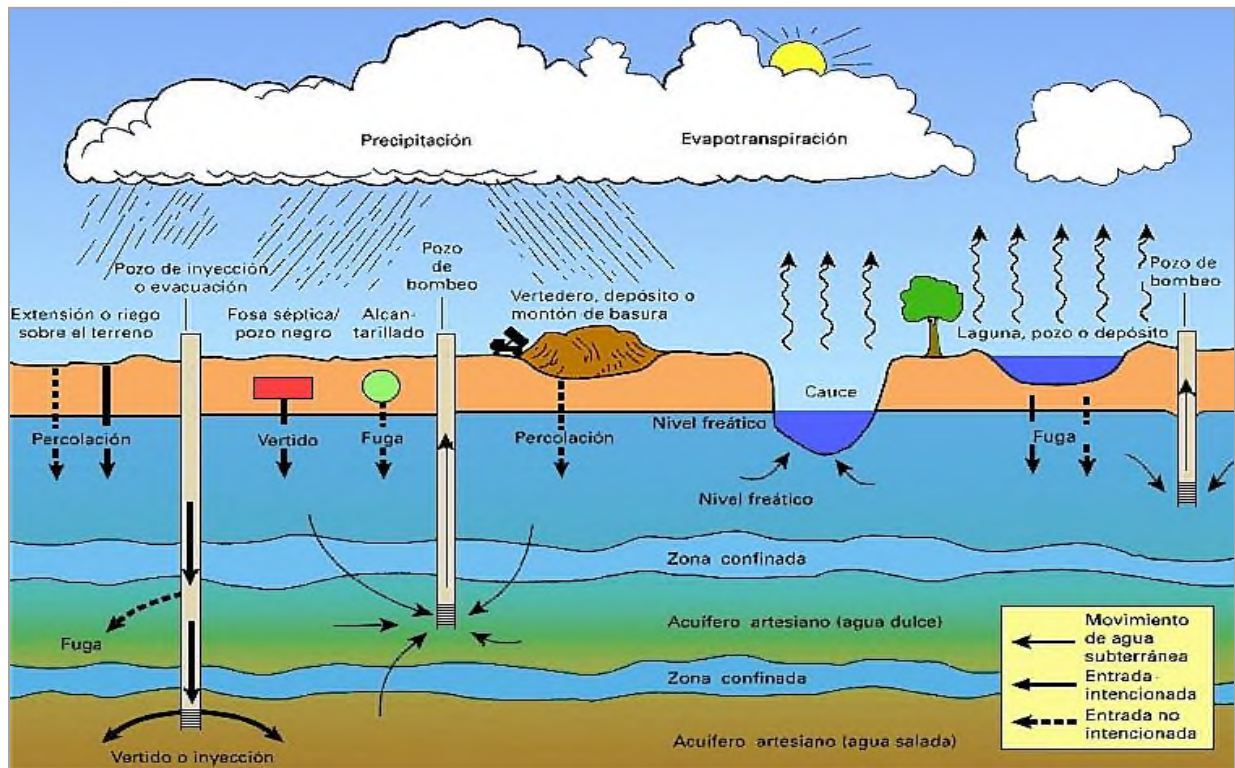


Figura 9. El agua subterránea como parte del ciclo hidrológico y la contaminación de los acuíferos por lixiviado de residuos sólidos depositados en la superficie (M. F., 2020).

La salud humana puede ser afectada por la contaminación del agua al ingerirla de forma directa o indirecta o por la exposición de los componentes tóxicos existentes en ella (Piver, 2007). Por ejemplo, los metales y metaloides tóxicos son un factor de riesgo para la salud tanto de las poblaciones humanas como del medio ambiente natural. Los elementos químicos que se detectan ampliamente en las aguas subterráneas incluyen metales, como Zn, Pb, Hg, Cr y Cd, y metaloides, como Se y As. Algunos de estos elementos son micronutrientes esenciales a bajas dosis. Sin embargo, la exposición a altas concentraciones de estos elementos, pueden provocar intoxicaciones graves. Por ejemplo, la exposición al Cr^{6+} puede aumentar el riesgo de cáncer. También se ha informado que el Cr^{6+} causa cambios en la composición de las poblaciones microbianas del suelo, y que además causa efectos perjudiciales sobre el metabolismo de las células microbianas a altas concentraciones.

El arsénico está clasificado como carcinogénico (Grupo 1) para el ser humano por la EPA y la IARC. Además, el As^{3+} pueden reaccionar con grupos de proteínas y enzimas sulfhídricos ($-\text{SH}$) para alterar las funciones celulares y eventualmente causar la muerte celular. Los metales tóxicos en el medio ambiente son persistentes y están sujetos a una bioacumulación moderada cuando ingresan a la cadena alimentaria (Li *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2011). También puede afectar negativamente la calidad de las tierras y los bosques, debido a la contaminación del suelo y la disminución de la calidad de la tierra. Por ejemplo, en muchas áreas agrícolas en regiones áridas, la alta salinidad del agua subterránea es uno de los principales factores que influyen en la salinización del suelo. Las sales solubles y otros contaminantes, como los metales tóxicos, pueden acumularse en la zona de las raíces y afectar el crecimiento de la vegetación (Li *et al.*, 2021). Se ha informado que el Pb elevado en los suelos puede disminuir la productividad del suelo y una concentración muy baja de Pb puede inhibir algunos procesos vitales de la planta, como la fotosíntesis, la mitosis y la absorción de agua con síntomas tóxicos de hojas de color verde oscuro, marchitamiento de las hojas más viejas, follaje atrofiado y hojas cortas de color marrón. La absorción de metales pesados por las plantas y su posterior acumulación a lo largo de la cadena alimentaria es una amenaza potencial para la salud humana. El consumo de alimentos contaminados con metales pesados puede agotar seriamente algunos nutrientes esenciales en el cuerpo que son además responsables de la disminución de las defensas inmunológicas, el retraso del crecimiento intrauterino, las discapacidades asociadas con la desnutrición y la alta prevalencia de tasas de cáncer gastrointestinal superior (Singh *et al.*, 2011).

Los contaminantes del agua subterránea también pueden ser transportados por las interacciones entre el agua superficial y el agua subterránea, lo que lleva al deterioro de la calidad del agua superficial. Debido a las características de las aguas residuales: la existencia de abundantes sustancias orgánicas, la

abundancia de una alta carga microbiana junto con niveles elevados de descomposición microbiana y, por lo tanto, una concentración reducida de oxígeno disuelto en el agua, se origina una alta demanda biológica de oxígeno, que es la característica más destacada de las aguas residuales. Esto puede tener consecuencias que van desde la disminución de las concentraciones de oxígeno disuelto por debajo de los niveles críticos requeridos por la vida acuática, hasta la producción de gases tóxicos (como NH_3 y H_2S), la asfixia de la flora y fauna bentónicas por sustancias sólidas suspendidas en las aguas residuales y el aumento de la concentración de metales pesados (D'Costa *et al.*, 2017).

La contaminación industrial genera la entrada al agua de metales pesados y oligoelementos, que son subproductos de muchos procesos industriales. Se sabe que los metales son tóxicos para la biota, especialmente cuando se presentan como cationes. Esto se debe a que, de esta forma, tienen la capacidad de unirse a cadenas de carbono cortas y, por lo tanto, bioacumularse y concentrarse en organismos acuáticos durante largos períodos de tiempo (D'Costa *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2021, Piver, 1992).

Se ha informado que los plaguicidas y sus residuos se encuentran entre los agentes más devastadores para los ecosistemas y organismos acuáticos que afectan a todos los niveles de la cadena alimentaria desde el nivel más bajo hasta el más alto. Muchos de los plaguicidas que se utilizan actualmente son organoclorados, organofosforados, HAPs y organometales, agrupados como "contaminantes orgánicos persistentes" (COP). Los COP tienen una amplia distribución encontrándose desde el Ártico hasta la Antártida y desde las profundidades intermareales hasta las abisales. Los efectos de la acumulación de COP que se han reportado en organismos superiores incluyen lesiones, tumores, cánceres (especialmente en peces y animales), inmunosupresión, alteraciones hormonales, insuficiencia reproductiva, entre otros (Shahidul & Tanaka, 2004).

El uso generalizado de antibióticos asegura su descarga en los sistemas acuáticos a través de efluentes domésticos y hospitalarios. Aunque los antibióticos son susceptibles a la biodegradación por las comunidades bacterianas naturales, algunos antibióticos sintéticos pueden no serlo. Además, los antibióticos son más estables cuando se adsorben en el sedimento y, por lo tanto, pueden afectar gravemente a las comunidades de microalgas bentónicas (Halling *et al.*, 1998).

Efecto de los contaminantes en el fitoplancton que conforma los mantos acuíferos.

El fitoplancton se encuentra constituido por organismos microscópicos, fotosintéticos e invisibles a simple vista. Incluyen diatomeas, dinoflagelados, cianobacterias y otros grupos de algas, que se encuentran en el rango de tamaño de 0,2 a 2 μm (D'Costa *et al.*, 2017, Walsh 2006). El fitoplancton es el principal productor

primario de los ecosistemas acuáticos, debido a que son la base que sustenta de manera directa o indirecta la vida del resto de los organismos acuáticos. Además, estos organismos forman la base de las intrincadas redes tróficas que alimentan los niveles subsiguientes y, finalmente, proporcionan alimento a la creciente población humana. Su producción de biomasa y secuestro de CO₂ es igual al de todas las plantas terrestres en conjunto, contribuyendo con más del 90% de la fijación fotosintética de carbono (D'Costa *et al.*, 2017; Hander & Gao, 2015; Lopez *et al.*, 2016). Cuando las condiciones son ideales para su desarrollo, el fitoplancton tiende a incrementar su abundancia, lo cual se conoce como florecimiento algal. Sin embargo, éstos pueden llegar a ser nocivos cuando proliferan especies que producen compuestos como amonio, mucílago, espumas, polisacáridos, alelopáticos y toxinas marinas, por ejemplo, saxitoxina, brevetoxinas, ciguatoxinas, azaspirácidos, diarreicas, amnésicas, espirolidos, palytoxinas, pinnatoxinas, gymnomidinas, entre otras. Estos compuestos al ser ingeridos por otros organismos, incluidos los seres humanos, pueden causar daños diversos o incluso la muerte en casos extremos. A estos eventos se les conoce como mareas rojas o florecimientos algales nocivos. En la figura 10 se observan ejemplos de estos. Por otra parte, algunos florecimientos no se caracterizan por contener toxinas, pero debido a su alta abundancia puede ocasionar condiciones de baja concentración de oxígeno (anoxia) y ocasionar la muerte de otras especies, por ejemplo, las branquias de los peces pueden obstruirse por la abundancia de esos microorganismos. Debido a estos eventos el fitoplancton puede usarse como grupo centinela, ya que sirve como indicador de la condición biológica y la salud de los océanos (López *et al.*, 2016).

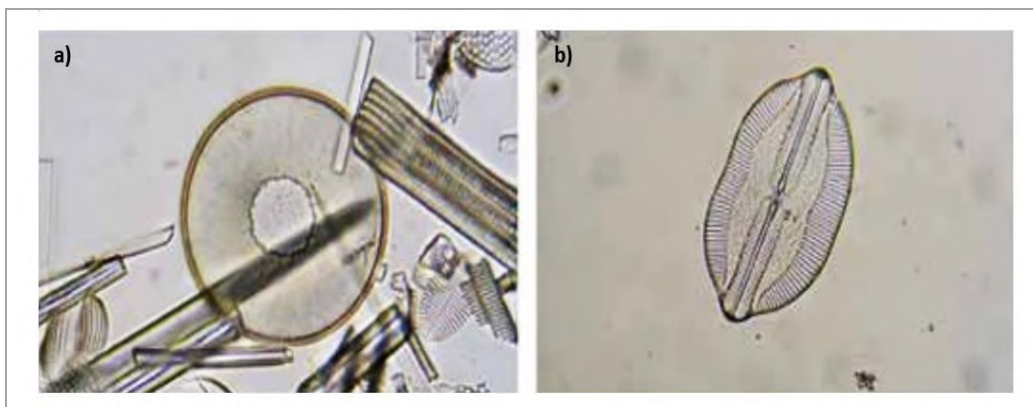


Figura 10. Algas diatomeas que forman parte de las floraciones nocivas de microalgas. a) *Hyalodiscus cf. scoticus*. b) *Lyrella clavata fo. granulata* (López *et al.*, 2016).

La productividad del fitoplancton está controlada por una serie de factores ambientales, muchos de los cuales experimentan actualmente cambios sustanciales debido al cambio climático global antropogénico (Hander & Gao, 2015).

Dado que muchos contaminantes se encuentran en las aguas superficiales, es probable que las funciones del fitoplancton se vean afectadas por ellos. Las comunidades de fitoplancton generalmente exhiben estabilidad cíclica, es decir, varían en composición en relación con los cambios de luz, temperatura y disponibilidad de nutrientes (Walsh, 2006). Por lo que el fitoplancton responde a diferentes tipos de contaminación no solo a través de cambios en la abundancia, sino también patrones de dominancia, sucesión y estructura de la comunidad. Por ejemplo, debido a la actividad microbiana y a sus procesos de descomposición dentro de las aguas residuales, se genera compuestos que sirven como nutrientes para el fitoplancton. El aumento en las concentraciones de nutrientes puede estimular el crecimiento del fitoplancton en grandes cantidades. Esto aumenta la disponibilidad de alimentos para los consumidores primarios y, en consecuencia, para los organismos que se encuentran más arriba en la red alimentaria. Esta suele ser una de las razones del aumento de la población de peces en un área. Sin embargo, este aumento puede ser de corta duración, especialmente cuando hay una proliferación dominante de especies de fitoplancton que producen compuestos nocivos. En tales condiciones, a pesar de la alta abundancia de fitoplancton, las especies de peces que se alimentan de este fitoplancton pueden acumular toxinas o sufrir una mortalidad masiva (D'Costa *et al.*, 2017; López, 2016). También puede ocurrir un cambio en los grupos de algas dominantes, debido al exceso de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo que provienen de los residuos, como los desechos agrícolas, provocando a su vez, un crecimiento acelerado de algas y otras plantas verdes. A este proceso de contaminación se le conoce como eutrofización, el cual es considerado como uno de los más importantes de las aguas (Gobler, 2003; Walsh 2006).

Varios estudios han documentado cambios en la composición de la comunidad de fitoplancton como resultado de las aguas residuales y la contaminación industrial. Estos cambios incluyen la reducción de la complejidad de la comunidad de fitoplancton, el aumento de la producción y la clorofila *a* y el aumento de especies de diatomeas potencialmente dañinas como *Pseudonitzschia sp.* La exposición del fitoplancton a metales da como resultado un aumento de la permeabilidad de la membrana celular en el fitoplancton y otras algas marinas, lo que conduce a la alteración de la integridad celular. Además, se ha observado un aumento en el tamaño de las células en el fitoplancton cultivado en presencia de cobre y mercurio, así como cambios similares inducidos por metales pesados en la forma celular del fitoplancton. Probablemente, la inhibición de la división celular en el fitoplancton por los metales es debida a la producción de células muy grandes de fitoplancton.

También se ha informado la acumulación de plaguicidas en el fitoplancton, debido a esta acumulación en la base de la red alimentaria se dará como resultado la biomagnificación de los residuos de plaguicidas a niveles tróficos más altos. Los antibióticos como contaminantes, pueden afectar al fitoplancton

directamente o mediante efectos sobre las bacterias asociadas con el fitoplancton. Esto depende del modo de acción del antibiótico. Algunos antibióticos aminoglucósidos (por ejemplo, la estreptomina), que afectan la síntesis de proteínas, son capaces de inhibir a las bacterias y el fitoplancton. Sin embargo, se han estudiado pocos antibióticos por su efecto sobre el fitoplancton (D'Costa *et al.*, 2017; Hander & Gao, 2015; Walsh, 2006).

Efecto de los contaminantes en microorganismos acuáticos.

La variabilidad microbiológica de las aguas naturales abarca numerosos organismos e incluye células eucariotas (algas, protozoarios y hongos), células procariotas (bacterias) y virus (microorganismos con capacidad de síntesis nula). Los coliformes, varias bacterias aerobias mesófilas y *Pseudomonas* son utilizados como indicadores de contaminación del agua y son relativamente inocuos para el ser humano y los animales. De acuerdo con la *norma bacteriológica de calidad* se establece que el agua debe estar exenta de patógenos de origen entérico y parasitario intestinal que son los responsables de transmitir enfermedades como *Salmonellosis*, *Shigelosis*, *Amebiasis*, etc. (Apella & Araujo, 2005).

Para comprender el comportamiento de los microorganismos vivos en el agua subterránea es necesario tener en cuenta tres principios básicos:

- 1- Los microorganismos pueden estar en suspensión en el agua o adheridos a superficies sólidas, ya sea a partículas en suspensión o a los materiales del acuífero. En función de su estado variara su transportabilidad. Generalmente solo una pequeña parte de los microorganismos se encuentran libres en el agua, y la mayoría se adhieren a superficies sólidas, donde encuentran adsorbidos los nutrientes necesarios para su crecimiento.
- 2- El número de bacterias en un medio natural concreto está condicionado por la limitación de nutrientes.
- 3- La abundancia de una u otra especie depende de su capacidad para utilizar los nutrientes disponibles, es decir que existe una competencia entre las especies, de modo que prolifera la mejor adaptada. Las bacterias forman auténticos microecosistemas, en los que los productos de degradación del metabolismo de unas bacterias son utilizados por otras. También se debe de tomar en cuenta la presencia de depredadores (microorganismos fagotrópicos) y virus específicos de las bacterias, los cuales juegan un papel similar al de los depredadores y enfermedades en los ecosistemas de animales superiores (Moreno *et al.*, 1998).

La mayor diferencia entre la microbiología de aguas superficiales y subterráneas radica en la ausencia de luz en estas últimas, mientras que en aguas superficiales juega un papel primordial (Apella & Araujo, 2005).

El crecimiento de microorganismos acuáticos está afectado por una gran variedad de factores físicos y químicos (luz, temperatura, presión, turbidez, sustancias orgánicas e inorgánicas, salinidad, pH y potencial redox, etc.), que pueden actuar complementaria o antagónicamente entre sí. Estos factores influyen no sólo en el tamaño y composición de las poblaciones microbianas, sino en la morfología y fisiología de sus componentes individuales, pudiendo producir cambios considerables en el metabolismo, la morfología celular y la reproducción, por lo que la supervivencia de los microorganismos en las aguas es muy variable, incluso para especies relacionadas (Apella & Araujo, 2005, Moreno *et al.*, 1998).

Considerando todo lo anterior, la adaptación de una comunidad microbiana al estrés ambiental puede implicar la inducción o desrepresión de enzimas, cambios genéticos y/o enriquecimiento selectivo de especies. Además, se ha demostrado que los microorganismos pueden adaptarse rápidamente a sustancias tóxicas en su entorno. Las bacterias presentan una serie de estrategias para reducir la toxicidad de su entorno inmediato. Estas estrategias incluyen sistemas de eflujo de metales específicos, unión de metales por polisacáridos extracelulares, inmovilización intracelular o transformación a formas más volátiles o menos tóxicas. En muchos casos, estas respuestas parecen estar mediadas por plásmidos (Ford, 1994; Vullo, 2003).

El sistema de resistencia bacteriana más estudiado es la reducción enzimática de Hg^{2+} a Hg^0 , que es muy volátil y se difunde rápidamente fuera de la célula bacteriana. La mayoría de los sistemas de resistencia al mercurio están codificados por plásmidos, lo que permite la transferencia conjugativa entre organismos. Los hidrocarburos clorados pueden afectar la síntesis de ácidos nucleicos y también se ha demostrado que causan mutaciones en microorganismos. Puede producirse la biodegradación de estos productos químicos, principalmente mediada por la amplificación (mediante el enriquecimiento selectivo, la transferencia de genes y la mutación) de genes implicados en el metabolismo de estos compuestos (Simón, 1992; Vullo, 2003).

Las bacterias potencialmente patógenas se liberan constantemente en las aguas, muchas de ellas albergan genes de resistencia a antibióticos que se insertan en plataformas genéticas móviles (plásmidos, transposones e integrones) capaces de propagarse entre las comunidades bacterianas que viven en el agua y en el suelo.

El agua constituye la ruta principal por la cual se introducen genes de resistencia bacterianos en los ecosistemas naturales, en donde las bacterias no patógenas pueden servir como reservorio de genes de resistencia. Esto acompañado de la introducción y la acumulación progresiva en el agua de agentes

antimicrobianos, como detergentes, desinfectantes, residuos de contaminación industrial (metales pesados), que contribuyen a una mayor propagación y evolución de mecanismos de resistencia de las bacterias presentes en el medio ambiente acuático (Acevedo, 2015; Ford, 1994).

Efecto de contaminantes en microorganismos en general.

La vida de los primeros seres vivos en nuestro planeta ha ido cambiando de forma natural con el tiempo desde su surgimiento. La transición de un planeta de condiciones anaeróbicas a un ambiente aeróbico hace 2500 millones de años (gracias a las cianobacterias), la fijación de nitrógeno atmosférico (lo que posibilita la vida vegetal), la descomposición de la materia orgánica, entre otros procesos esenciales realizados por los microorganismos permiten el equilibrio en los ecosistemas (Abellón, 2016).

La diversidad y versatilidad microbiológica permite que estos seres habiten ambientes tan extremos como las fumarolas oceánicas o el permahielo, aguas termales, en las profundidades de los océanos, etc., y se denominen como extremófilos. Estas condiciones de vida en los microorganismos ha permitido clasificarlos de acuerdo al ambiente donde pueden sobrevivir, dentro del cual se encuentran los que se caracterizan por su capacidad de vivir a altas temperaturas (termófilos e hipertermófilos), bajas temperaturas (psicrófilos), en altas concentraciones de sal (halófilos) o altas presiones (barófilos), así como medios ácidos o alcalinos (acidófilos y alcalófilos), entre otros (Abellón, 2016; Brock, 2009).

Sin embargo, la acumulación de contaminantes en el medio ambiente ha alterado los ecosistemas y ha alterado la forma de vida de la mayoría de los seres vivos. En el caso de los microorganismos estas alteraciones no han sido de todo perjudiciales, pues tienen la capacidad de desarrollar mecanismos que les ayude a sobrevivir bajo estas condiciones. Por ejemplo, tienen la capacidad de metabolizar algunos contaminantes como metales pesados, agroquímicos, hidrocarburos, entre otros; expresan genes que les permiten contrarrestar los efectos de compuestos tóxicos; al tener otras fuentes de nutrientes, generan metabolitos como enzimas para poder llevar a cabo su metabolismo (Abellón, 2016, Brock, 2009; Cervantes, 2006; Gouma *et al.*, 2014; Torres, 2003; Vullo, 2003). Por lo que los efectos generados en los microorganismos resultan muy interesantes y se han estudiado muchas de las propiedades y/o características que presentan o desarrollan para sobrevivir bajo estas condiciones de contaminación ambiental.

Debido a que la contaminación del agua presenta principalmente la presencia de metales provenientes de los residuos industriales, dentro de los cuales se encuentran los metales pesados, que se definen comúnmente como aquellos que tienen una densidad específica de más de 5 g/cm³, preferentemente se ha estudiado más los efectos que estos producen en los microorganismos (Järup, 2003; Piver, 1992). La

introducción de metales pesados, en diversas formas, en el medio ambiente, puede producir modificaciones considerables de las comunidades microbianas y sus actividades. La absorción excesiva de estos iones metálicos trae serios riesgos para los microorganismos, como dañar las membranas celulares, inhibir la actividad enzimática, dañar el ADN y alterar las funciones celulares. La mayoría de los iones de metales pesados, como los iones de Pb, Ag y Hg, son potencialmente tóxicos para los microorganismos (Hassen *et al.*, 1998; Yin *et al.*, 2019).

Estudios han informado que los principales mecanismos de toxicidad a nivel molecular son: *a)* Bloqueo de grupos funcionales esenciales en biomoléculas, debido a la alta afinidad de los cationes metálicos por los grupos sulfhídricos de las proteínas, específicamente a los residuos de cisteína, lo que ocasiona su desnaturalización. *b)* El desplazamiento de centros catiónicos en enzimas importantes, como es el caso de la ribulosa 1-5 bisfosfato carboxilasa-oxigenasa (rubisco), la cual tiene un centro catiónico de Mg^{2+} que puede ser desplazado en presencia de cationes divalentes como Co^{2+} , Ni^{2+} y Zn^{2+} . Dicho desplazamiento provoca que la mencionada enzima pierda su función. *c)* Formación de ERO debido a la autooxidación de metales como Fe^{2+} o Cu^{2+} , lo que resulta en la formación de H_2O_2 y $\cdot OH$, por la vía de reacción de Fenton. El $\cdot OH$ es uno de los más reactivos que se conocen, por su capacidad de iniciar reacciones en cadena de radicales libres que ocasionan modificaciones y daño irreversible a compuestos celulares como carbohidratos, ADN, proteínas y particularmente lípidos (Covarrubias & Peña, 2017).

Se ha demostrado que los metales se unen y/o rompen ADN. La bioacumulación de algunos metales es un aspecto importante de su toxicidad que puede resultar en la aparición de síntomas después de una exposición prolongada; su acumulación también puede conducir a su movilización a través de las cadenas alimentarias con posibles efectos en organismos superiores (Sterritt & Lester, 1980; Yin *et al.*, 2019).

Los metales pesados generalmente ejercen una acción inhibitoria sobre los microorganismos bloqueando grupos funcionales esenciales, desplazando iones metálicos esenciales o modificando las conformaciones activas de moléculas biológicas. Por ejemplo, se ha demostrado que el cobre y la plata bloquean un sistema enzimático involucrado en la respiración. Sin embargo, a concentraciones relativamente bajas, algunos metales son esenciales para los microorganismos (por ejemplo, Co, Cu, Zn, Ni) ya que proporcionan cofactores vitales para las metaloproteínas y enzimas (Hassen *et al.*, 1998; Ross, 1975).

Otros factores pueden afectar la forma de los metales y, por lo tanto, su potencial toxicidad. Estos incluyen pH, concentración de agentes quelantes, concentración de aniones inorgánicos y competencia de otros cationes. Donde se ha encontrado, por ejemplo, que la toxicidad del cadmio para algunas bacterias aumentaba a un pH alcalino; varios agentes quelantes naturales y sintéticos pueden reducir la toxicidad de los metales pesados, demostrándose, por ejemplo, que la cisteína protege a las bacterias contra la

toxicidad del acetato de metilmercurio y se ha demostrado que los minerales arcillosos influyen en la toxicidad del cadmio para las bacterias (Sterritt & Lester, 1980).

Las emisiones de metales pesados al medio ambiente se producen a través de una amplia gama de procesos y vías, incluso al aire (por ejemplo, durante la combustión, extracción y procesamiento), a las aguas superficiales (a través de la escorrentía y las liberaciones del almacenamiento y transporte) y al suelo (y por lo tanto en aguas subterráneas y cultivos) (Järup, 2003).

Por ejemplo, el Cr^{6+} existe en forma de anión soluble en agua, el cual puede persistir en este ambiente por largos periodos. En diversas especies bacterianas se ha demostrado que el Cr^{6+} en forma de CrO_4^{-2} entra activamente a las células a través del sistema de transporte del SO_4^{-2} . La figura 11 a muestra este mecanismo. La analogía química entre el cromato y el sulfato ha sido enfatizada por el hecho de que el cromato es un inhibidor competitivo del transporte del sulfato en todas las especies bacterianas que han sido estudiadas. En contraste, el Cr^{3+} atraviesa las membranas con muy baja eficiencia debido a que forma compuestos insolubles en soluciones acuosas no ácidas, lo cual se observa en la figura 11 b. Los efectos tóxicos del Cr dependen de su estado de oxidación. A nivel extracelular, el Cr^{6+} es altamente tóxico para la mayoría de las bacterias, ya que es transportado activamente al citoplasma, mientras que el Cr^{3+} es relativamente inofensivo debido a su insolubilidad e incapacidad de atravesar las membranas celulares. Esto se muestra en la figura 10b. En el interior de la célula, la toxicidad del Cr se relaciona principalmente con el proceso de reducción del Cr^{6+} a estados de oxidación inferiores como Cr^{3+} . En la figura 11 c se muestra este mecanismo. Este proceso puede ocasionar la formación de radicales libres, generando estrés oxidativo y en consecuencia diversos efectos tóxicos en el ADN, lípidos y/o en las proteínas. Lo anterior se muestra en la figura 11 d, 11 e y 11 f. Se considera que el daño oxidativo al ADN es responsable de los efectos genotóxicos causados por el cromato. La exposición al CrO_4^{-2} es considerado como un serio problema toxicológico, pues se ha demostrado que el Cr^{6+} es un agente potencialmente carcinógeno en humanos (Avendaño, 2012; Ramírez *et al.*, 2009).

Algunos metales pesados son esenciales para el metabolismo de los hongos, mientras que otros no tienen ningún papel biológico conocido. Tanto los metales pesados esenciales como los no esenciales son tóxicos para los hongos, cuando están presentes en exceso. Mientras que los hongos tienen necesidades metabólicas de metales traza, los mismos metales son a menudo tóxicos en concentraciones sólo unas pocas veces superiores a las requeridas (Baldrian, 2003; Hassen *et al.*, 1998; Ross, 1975). Varios metales son esenciales para el crecimiento de hongos, incluidos el Cu, Zn, Fe, Mn, Mg, Ca o Sr y K. Algunas especies también requieren Co.

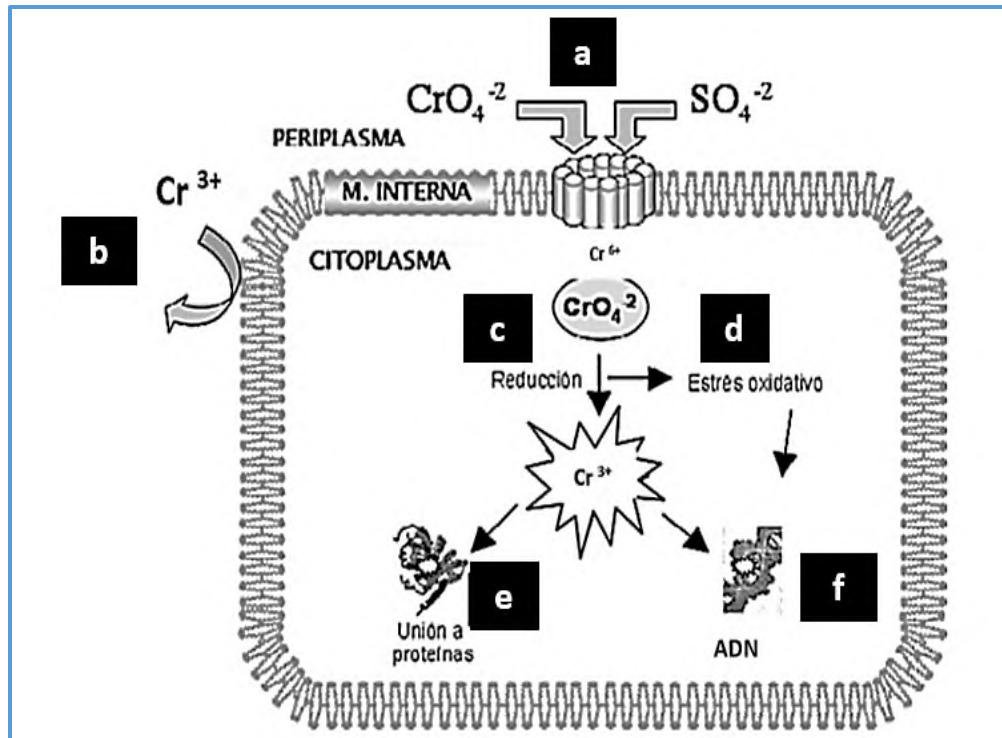


Figura 11. Transporte y toxicidad del cromato en la célula bacteriana (Ramírez *et al.*, 2009).

Los iones metálicos esenciales parecen estar asociados principalmente con las enzimas, ya sea como activadores, que están débilmente unidos y parecen actuar como un enlace entre la enzima y el sustrato o firmemente unidos como en las metaloenzimas. En tales enzimas, el metal puede unirse directamente a la proteína o quelarse mediante un grupo protésico de porfirina o flavina. Se encuentra con frecuencia que el magnesio activa las enzimas, mientras que el Cu, Fe, Mo o Zn son componentes comunes de las metaloenzimas, un metal puede considerarse tóxico si altera el crecimiento o el metabolismo de un organismo por encima de una determinada concentración (Baldrian, 2003; Ross, 1975).

La concentración a la que un metal se vuelve tóxico se ve afectada por muchos factores, incluidas las cantidades relativas de iones relacionados, la presencia de compuestos orgánicos que pueden tener propiedades quelantes y el pH del medio ambiente (Ross, 1975; Sterritt, 1980). Los metales no esenciales que se encuentran comúnmente incluyen Cr, Cd, Pb, Hg y Ag. Los cuales pueden inhibir el crecimiento, provocar cambios morfológicos y fisiológicos y afectar la reproducción de los basidiomicetos en los hongos (Baldrian, 2003). Los metales más electronegativos, como el Cu, Hg y Ag, tienen altas afinidades por los grupos sulfhidrilo, amino e imino, que probablemente sean sitios reactivos en muchas enzimas. Por lo que es probable que todos los elementos de transición divalentes y los demás metales electronegativos con sulfuros insolubles, como Ag, Mo y Sn, sean venenosos como resultado de la reactividad con las enzimas.

Algunos metales aparentemente actúan en la membrana celular provocando cambios en la permeabilidad. Estos incluyen Au, Cd, Cu, Hg, Pb y U (Hassen *et al.*, 1998).

Mecanismos de defensa de los microorganismos contra agentes contaminantes

En comparación con las plantas y los animales, los microorganismos pueden resistir el estrés ambiental a través de una rápida mutación y evolución. Dentro de la amplia diversidad microbiana, existen microorganismos resistentes y microorganismos tolerantes a metales. Los resistentes se caracterizan por poseer mecanismos de detoxificación codificados genéticamente, inducidos por la presencia del metal (Vullo, 2003; Yin, 2019). Los mecanismos de resistencia a los metales en los microbios incluyen la precipitación de metales como fosfatos, carbonatos y/o sulfuros; volatilización mediante metilación o etilación; exclusión física de componentes electronegativos en membranas y EPS; sistemas de eflujo de metales dependientes de la energía; y secuestro intracelular con proteínas ricas en cisteína de bajo peso molecular (De *et al.*, 2008; Rosen, 1996). En cambio, los tolerantes son indiferentes a la presencia o ausencia de metal. Tanto los microorganismos resistentes como tolerantes son de particular interés como captadores de metales en sitios contaminados, debido a que ambos pueden extraer los contaminantes. La resistencia o tolerancia experimentada por microorganismos es posible gracias a la acción de diferentes mecanismos (Vullo, 2003). Además, algunos microorganismos pueden remediar los iones de metales pesados transformando los iones de metales pesados activos en formas inactivas, que pueden usarse en la biorremediación de áreas contaminadas (Vullo, 2003; Yin, 2019).

Después de muchos años de evolución, los microorganismos tienen mecanismos de resistencia fisiológica y química para superar la toxicidad de los iones de metales pesados. Los microorganismos son el factor clave en la biorremediación de metales pesados. Las principales vías de desintoxicación de iones de metales pesados incluyen a) el secuestro extracelular, b) el secuestro intracelular, c) el transporte activo del metal pesado y d) la desintoxicación enzimática, que pueden evitar la exposición a metales pesados o reducir su biodisponibilidad (Figura 12, Tabla 1) (Yin, 2019).

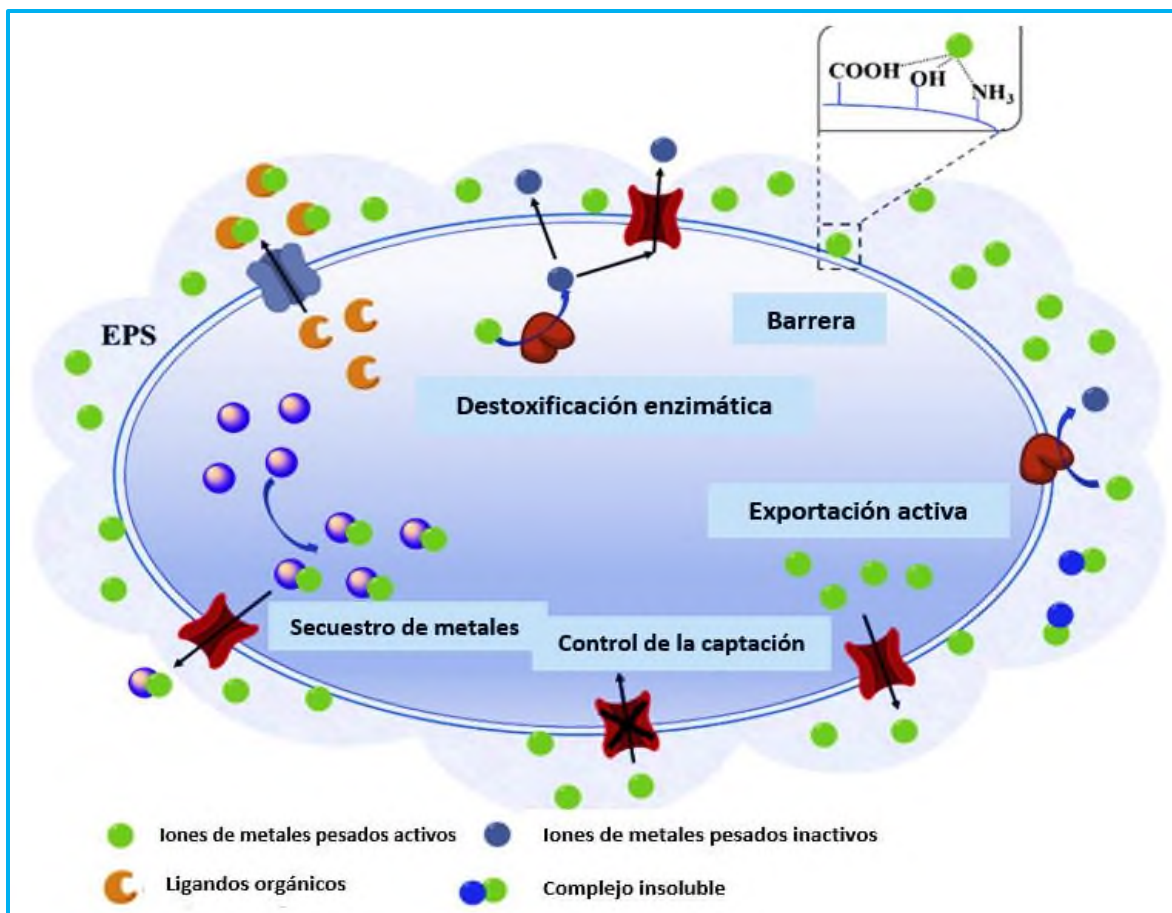


Figura 12. Vías propuestas de desintoxicación de microorganismos hacia iones de metales pesados (Yin, 2019).

Tabla 1. Mecanismos de resistencia de microorganismos vivos hacia iones de metales pesados (Yin, 2019).

Mecanismos de resistencia	Resistencia molecular	Iones de metales pesados	Microorganismos
Secuestro Extracelular	EPS	Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+}	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>
		Cd^{2+} , Pd^{2+} , Zn^{2+}	<i>Alteromonas macleodii</i>
		Cu^{2+} , Pd^{2+} , Zn^{2+}	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Sideróforos	Pd^{2+}	<i>Ensifer adhaerens</i>
	Sulfuro de hidrogeno	Cr^{2+} , Pd^{2+} , Zn^{2+}	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Secuestro Intracelular	Polifosfatos	Cd^{2+} , Ni^{2+} , Cr^{6+}	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>
		Cu^{2+}	<i>Sulfolobus solfataricus</i>
	Metalotioneínas	Cd^{2+}	<i>Anacystis nidulans</i>
		Cd^{2+} , Zn^{2+}	<i>Synechococcus sp.</i>
Exportación Activa	Eflujo ATPasa tipo P	Cu^{2+}	<i>Sulfolobus solfataricus</i>
		Zn^{2+}	<i>Sinorhizobium melliloti</i>
	ABC transportadores	Hg^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+}	<i>Escherichia coli</i>
		Au^{3+}	<i>Cupriavidus metallidurans</i>
Destoxificación enzimática	Mercurio reductasa	Hg^{2+}	<i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Bacillus firmus</i>
	Catalasa	As^{3+}	<i>Acinetobacter sp.</i>

A continuación, se describen cada una de estas vías mostradas en la figura 12:

a) Secuestro extracelular

El secuestro extracelular de iones de metales pesados activos puede disminuir eficazmente su toxicidad para los microorganismos, que es el método más utilizado para su eliminación. Los iones de metales pesados pueden ser acumulados por diversas estructuras biológicas que incluyen sustancias poliméricas extracelulares, sideróforos, glutatión y biotensoactivos. Los EPS constituidos por ácidos nucleicos, lípidos, proteínas y carbohidratos complejos tienen abundantes sitios de unión a metales como los grupos funcionales carboxílico, hidroxilo, amino, sulfhídrico y fosfato (Shi *et al.*, 2017; Wei *et al.*, 2017). Los EPS son bioabsorbentes eficientes de varios metales pesados, incluidos el Pb, Cu, Zn, Cr y Ag, que pueden influir en la distribución de metales pesados en los microorganismos (Deschatre *et al.*, 2013; Teitzel *et al.*, 2003; Wei *et al.*, 2017). Los sideróforos como la pioverdina son ligandos orgánicos excretados por bacterias y hongos (Chaturvedi *et al.*, 2012; Yin *et al.*, 2014). Los sideróforos tienen la capacidad de acumular hierro férrico y formar complejos de Fe, que ayudan a los microorganismos a sobrevivir en condiciones de deficiencia de hierro. Además del hierro férrico, los sideróforos también pueden unirse a otros tipos de metales pesados, incluidos el Co, Zn y Ni, que protegen a los microorganismos de la toxicidad por metales pesados. La biosíntesis de los sideróforos está regulada por los niveles de Fe, y se reprime en ambientes con altas concentraciones de éste (Sharma *et al.*, 2018; Suárez *et al.*, 2002). El glutatión secretado por microorganismos también tiene una gran capacidad para unirse a iones de metales pesados. Los iones de metales pesados se pueden adsorber con glutatión para formar un complejo y no pueden entrar en las células vivas. La producción microbiana de sulfuro de hidrógeno generalmente tiene efectos significativos sobre la desintoxicación de metales pesados. Además, la pared celular de los microorganismos también es un sistema de defensa muy importante contra la toxicidad de los metales pesados. Hay un gran número de grupos funcionales catiónicos y aniónicos en la pared celular, como los grupos hidroxilo, amina, carboxilo y fosfato, que podrían evitar que los iones de metales pesados entren en el entorno intracelular mediante el secuestro extracelular de metales (Naik *et al.*, 2013).

b) Secuestro intracelular

Una vez que los iones de metales pesados atraviesan la pared celular y entran en los microorganismos, las trampas intracelulares dentro del citoplasma pueden secuestrar estos iones de metales pesados y evitar que alcancen un nivel tóxico. Por lo tanto, los componentes celulares sensibles pueden protegerse de la exposición a iones de metales pesados. Muchos microorganismos pueden transformar iones de metales pesados con la ayuda de sulfuros, polifosfatos citosólicos y proteínas cisteinéricas (Kulakovskaya *et al.*, 2018; Suárez *et al.*, 2002). Por un lado, los iones de metales pesados activos se pueden transformar para

formar precipitados de metales insolubles. Algunas bacterias y cianobacterias pueden utilizar polifosfatos citosólicos para depositar iones de metales pesados (Remonsellez *et al.*, 2006). Por otro lado, las proteínas ricas en cisteína como las metalotioneínas pueden acumular iones de metales pesados, ya que tienen una alta afinidad por estos. Cuando se expone a iones de metales pesados, la metalotioneína se puede sobreexpresar para superar este estrés, evitando la interacción de los metales con otras proteínas esenciales para el microorganismo. Por ejemplo, *Synechococcus sp.*, puede secretar metalotioneína para unir Cd^{2+} y Zn^{2+} y reducir su toxicidad para las células (Blindauer *et al.*, 2008; Suárez *et al.*, 2002).

c) Exportación activa de iones de metales pesados

El transporte de iones de metales pesados fuera del entorno intracelular es otro proceso para defender el estrés por metales pesados, que puede regular eficazmente las concentraciones intracelulares de iones de metales pesados con sistemas de eflujo. Estos sistemas de eflujo se han encontrado generalmente en diferentes microorganismos, especialmente aquellos aislados de ambientes contaminados con metales. Generalmente, la expresión de los transportadores de iones metálicos en los sistemas de eflujo depende de las especies bacterianas e iones de metales pesados, que está regulada por genes de resistencia especiales en el cromosoma o plásmido. Estos genes codifican transportadores de membrana que controlan la captación y exclusión de iones de metales pesados. Existen numerosas proteínas exportadoras de metales diseminadas en la membrana celular para lograr la salida de iones de metales pesados como ATPasa de salida de tipo P, anfiportadores de protones-cationes, transportadores ABC y facilitadores de difusión de cationes. La salida de arsenito está regulada por una proteína exportadora en la membrana celular con la ayuda de ATPasa (Remenar *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2012). Además, la ATPasa de salida de tipo P puede ayudar a las bacterias grampositivas a exportar Cu^{2+} , Cd^{2+} y Zn^{2+} . Los transportadores ABC (también llamados ATPasas de tráfico) son capaces de mediar la translocación de los iones de metales pesados en la membrana, que ayudan a los microorganismos a superar el estrés por metales pesados (Lerebours *et al.*, 2016; Maynaud *et al.*, 2014).

d) Desintoxicación enzimática

La biotransformación o modificación química de los iones de metales pesados de una forma altamente tóxica a una forma menos dañina por la enzima contribuye mucho a la resistencia de los microorganismos a los iones de metales pesados. El cambio de estado redox de los iones de metales pesados a través de reacciones de reducción u oxidación puede disminuir eficazmente su toxicidad. Esta vía de defensa puede ser regulada por enzimas de desintoxicación, que también está controlada por genes de resistencia especiales de microorganismos. Bacterias como *Bacillus sp.*, muestran resistencia a los iones de mercurio a través del ion mercurio reductasa. La reductasa mercúrica reduce los iones mercúricos a mercurio

metálico, que luego se libera al entorno circundante a través de la membrana celular. Bacterias *Micrococcus sp.* y *Acinetobacter sp.*, puede oxidar el As^{3+} tóxico en As^{5+} menos soluble e inofensivo para disminuir su toxicidad (Liu *et al.*, 2017; Nagvenkar *et al.*, 2010; Noroozi *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2012).

Los genes de resistencia desarrollados por los microorganismos son cromosómicos en algunos casos, mientras que otros se encuentran en elementos extracromosómicos llamados factores R, plásmidos grandes que a menudo también portan varias resistencias a antibióticos. Los dos tipos de resistencias más prevalentes implican el tipo de transporte de la especie iónica, ya sea dentro o fuera de las células y la reducción a una especie menos tóxica o a una forma química que pueda extruirse de las células. En las figuras 13 y 14 se muestra lo anterior.

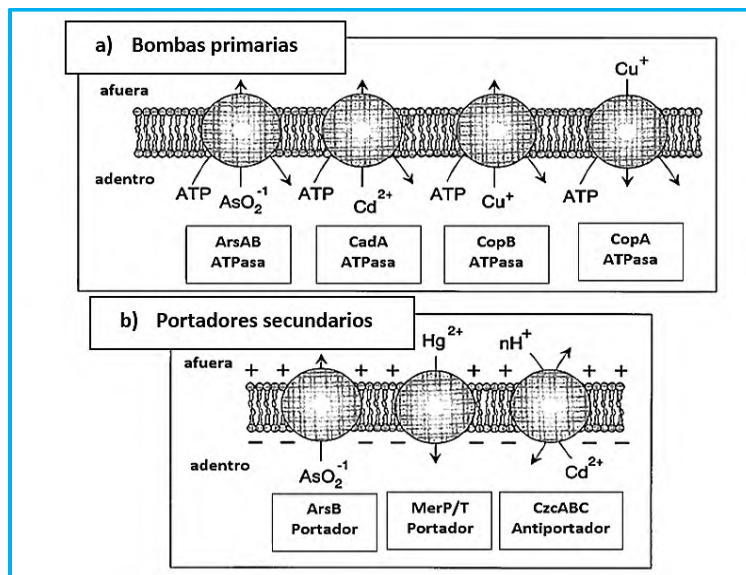


Figura 13. Resistencias metálicas y metaloides determinados por transporte (Rosen 1996).

Dentro de las bombas primarias, las ATPasas catalizan la absorción o extrusión de cationes u oxianiones metálicos. Se trata de ATPasas de traslocación de iones que utilizan energía química como fuerza motriz para el transporte. Lo anterior se muestra en la figura 13 a. Se han identificado bombas primarias específicas para Cu^{+}/Ag^{+} (CopA y CopB), Cd^{2+}/Zn^{2+} (CadA) y oxianiones de As^{3+}/Sb^{3+} (la bomba Ars), donde la extrusión de las células produce resistencia. Los portadores secundarios, uniportadores o antiportadores, catalizan la captación o extrusión electroforética de cationes u oxianiones. Los gradientes electroquímicos de protones u otros iones de acoplamiento establecidos por bombas primarias, como las cadenas respiratorias, son la fuerza impulsora del transporte. El componente de membrana de la bomba Ars puede servir por sí mismo como un portador de arsenito secundario, produciendo una resistencia de bajo nivel en las células que carecen de la subunidad ATPasa. El As^{5+} es reducido por el arseniato reductasa

a arsenito, que es extruido por la bomba Ars. La extrusión de Cd^{2+}/Zn^{2+} (se reportado también para Co^{2+}) también puede ser catalizada por el antiportador CzcABC. Czc es una bomba de eflujo que funciona como un antiportador divalente de catión/protón quimioosmótico. El Hg^{2+} es introducido en las células por un antiportador, donde la reductasa mercúrica lo reduce a Hg^0 , que se difunde de manera inofensiva fuera de las células. Además, en algunas bacterias, el secuestro de metales como Cd^{2+} y Zn^{2+} puede conducir a la tolerancia (De *et al.*, 2008; Rosen 1996). En la figura 13 b se muestra lo anterior.

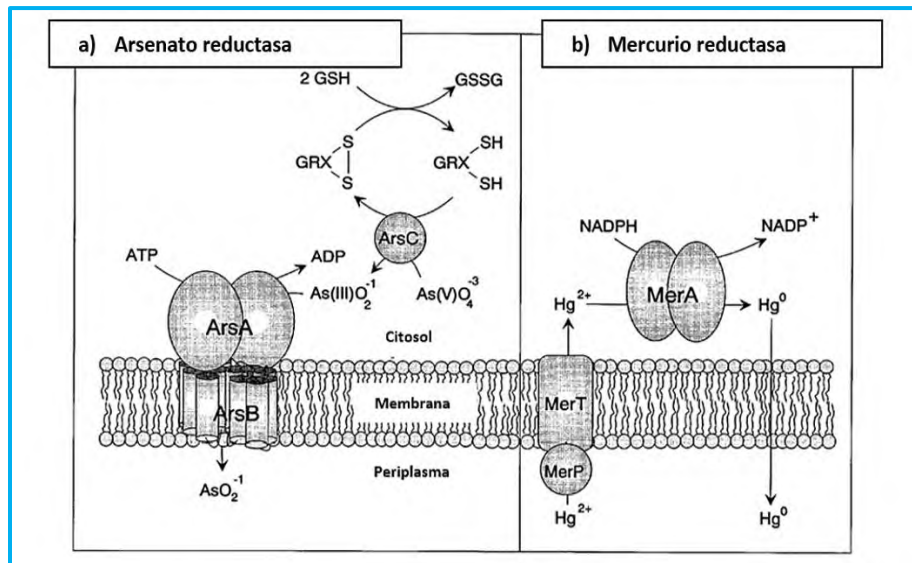


Figura 14. Resistencias metálicas y metaloides mediadas por reducción (Rosen 1996).

La proteína ArsC es una arsenato reductasa que acopla la glutaredoxina (o tiorredoxina) a la reducción de As^{5+} a As^{3+} . La forma oxianiónica reducida, arsenito, es extruida por la bomba Ars, produciendo resistencia. Lo cual se muestra en la figura 14 a. En la figura 14 b se muestra como el ion mercúrico es transportado al interior de las células por las proteínas MerPT. La proteína MerA es una flavoproteína que reduce el Hg^{2+} a Hg^0 . El mercurio elemental impregna la membrana de forma pasiva y se evapora del medio, lo que genera resistencia (Rosen 1996).

Microorganismos aislados en la Región de Tuxtepec, Oaxaca.

Dentro de los trabajos reportados sobre microorganismos aislados en la región de Tuxtepec, Oaxaca, relacionados con el presente trabajo, se encuentra el de Montor-Antonio y colaboradores, en el cual aislaron, caracterizaron e identificaron cepas bacterianas de especies de *Bacillus spp.*, productoras de amilasas y celulasas, en suelos de plantíos de caña, plátano y piña con altos rendimientos. Informaron el

posible aislamiento de nuevas especies del género *Bacillus* que no han sido reportadas previamente. Caracterizaron bioquímicamente las amilasas de las especies que denominaron como *Bacillus amyloliquefaciens* JJ31 y *Bacillus ssp.* NM21 y las celulasas de *Bacillus spp* NM25 y *Bacillus spp.* NM33 (Montor *et al.*, 2014a). A partir de este trabajo Montor-Antonio junto con otros colaboradores realizaron un trabajo más detallado sobre la amilasa producida por *Bacillus amyloliquefaciens* aislada de suelos cultivados con caña de azúcar en la región del Papaloapan (Montor *et al.*, 2014b).

Navarro Moreno y colaboradores, evaluaron la contaminación de diferentes afluentes de agua del Río Papaloapan, principalmente por metales pesados y la resistencia bacteriana hacia estos. Las bacterias que aislaron fueron *Hafnia alvei* y *Bacillus pumilus*, en los efluentes que denominaron Papaloapan, Sumatra, Playa de mono, Arroyo Moctezuma, Plan de Águila, Orquídeas y Naranjal. Dentro de sus conclusiones indicaron que “*las bacterias al estar expuestas a metales pesados en su ambiente natural podrían estar desarrollando factores o sistemas de defensa contra los metales pesados, lo cual indica que las cepas podrían estar cambiando y al ser más resistentes formar cepas superresistentes a metales pesados*”. Lo cual resulta muy alarmante, ya que se ha reportado que estas especies bacterianas son patógenas para el ser humano y al desarrollar sus mecanismos de defensa estos podrían resultar resistentes a una gran variedad de fármacos (Navarro *et al.*, 2015).

Microorganismos aislados de afluentes contaminados de la región de Tuxtepec, Oaxaca.

En el Laboratorio de Bioquímica de la Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec, se cuenta con una recopilación de cepas de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) aislada e identificada de algunos afluentes contaminados de la región de Tuxtepec, Oaxaca. Los microorganismos presentados en este trabajo han sido aislados e identificados a partir de muestras tomadas del Arroyo Moctezuma, la Laguna Linda Vista y el Río Papaloapan. Estos microorganismos han conformado parte de varios trabajos de tesis de estudiantes de las carreras de Licenciatura En Ciencias Químicas e Ingeniería en Biotecnología.

Actualmente se han podido aislar e identificar tres cepas de bacterias que son *Bacillus pumilus*, *Hafnia alvei* y *Pseudomonas aeruginosa*; siete cepas de hongos, *Acremonium sp*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium citrinum* y *Talaromyces sp* y dos cepas de levaduras, *Candida parapsilosis* y *Rhodotorula sp*. De acuerdo con la literatura, algunos de estos microorganismos poseen el potencial de ser patogénicos tanto en humanos como en animales y plantas.

CAPÍTULO 3

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar una investigación bibliográfica acerca de los microorganismos (bacterias, hongos y levaduras), aislados en los afluentes Laguna Linda Vista, Arroyo San Jacinto, Arroyo Moctezuma y el Río Papaloapan de la región de Tuxtepec, Oaxaca, a fin de saber si estos pueden ser nocivos o benéficos para el ser humano y el ambiente.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Investigar las características microscópicas, el hábitat, el metabolismo y las características bioquímicas de las cepas microbianas aisladas en diferentes afluentes de la región de Tuxtepec, Oaxaca.
2. Investigar los mecanismos de resistencia a agentes tóxicos como metales pesados, degradados de PET y antimicrobianos de cada microorganismo.
3. Investigar sobre la aplicación y/o el uso de estos microorganismos para contrarrestar problemas ambientales como posibles agentes biorremediadores.
4. Investigar la relación microorganismo-patología con el ser humano.

CAPÍTULO 4

METODOLOGÍA

1) Recopilación de la información

El título de esta revisión bibliográfica es “Microorganismos aislados de afluentes contaminados de la región de Tuxtepec, Oaxaca”. En base a este título, las principales palabras claves que se utilizaron, para realizar la recopilación de la información a presentar en este trabajo fueron: agentes tóxicos, resistencia, mecanismos, PET, antimicrobiano, patologías, aplicaciones, metabolismo, toxicidad. Como palabras claves secundarias se utilizó: el nombre de cada microorganismo, hábitat, características microbiológicas. Como conector principal de las palabras claves, se utilizó “y”.

Una vez identificada las palabras claves se realizó una investigación bibliográfica en diferentes revistas científicas, artículos de investigación, libros, etc. (en inglés y español), de cada microorganismo, reportados hasta el momento. La búsqueda fue realizada en bibliotecas digitales y/o bases de datos como: SciELO (Scientific Electronic Library Online o Biblioteca Científica Electrónica en Línea), Redalyc (Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal), American Society for Microbiology, American Chemical Society (ACS), entre otras. Se utilizaron referencias de distintas editoriales como JSTOR, Personia, Taylor & Francis, Springer y Elsevier.

Como herramienta de trabajo se utilizaron algunos buscadores enfocados y especializados en la búsqueda de contenido y bibliografía científico-académica, como:

- Pubmed: base de datos de libre acceso que contiene literatura sobre medicina y ciencias de vida. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
- Google Académico: es un buscador especializado de Internet, que rastrea todo tipo de documentación científica en la Web y permite encontrar datos, citas, documentos, entre otros. <https://scholar.google.es/>
- ScienceDirect: es la base de datos electrónica más grande del mundo sobre ciencia, tecnología y medicina. <http://www.sciencedirect.com/>
- Scielo (Scientific Electronic Library Online): es una biblioteca virtual formada por una colección de revistas científicas españolas de ciencias de la salud. <http://www.scielo.org/php/index.php?lang=es>

Como apoyo para la traducción se ha utilizado el diccionario online:

- Linguee (Diccionario de español-inglés). <http://www.linguee.es/espanol-ingles/>

2) Selección y análisis bibliográfico

A partir del número de estudios que fueron recolectados en diferentes revistas, artículos de investigación, libros, bases de datos, etc., de información científica, se verificaron aspectos como: especificidad del tema, metodologías de análisis representativos, resultados coherentes, justificados y discusión de los mismos, con soportes bibliográficos calificados y acorde con los datos obtenidos. Todo ello, con el fin de comprobar la buena acreditación informativa, que sea de gran relevancia e importancia para el estudio de estos microorganismos.

Los criterios utilizados para seleccionar los artículos incluyeron la relevancia de estos (veces que el artículo ha sido nombrado en otros artículos), la información que daban en el resumen y la actualidad del artículo. Se ha intentado que la mayoría de artículos seleccionados tengan una antigüedad no mayor a 20 años, no obstante, hay algunos que a pesar de no ser actuales aportan información importante, por lo que si son considerados en este trabajo. De acuerdo con estos criterios y las palabras claves, los resultados de búsqueda fueron reducidas, contemplando en cada caso (por microorganismo y tema) la revisión de mínimo 30 artículos, de los cuales se consideraron los que cumplen con los criterios de selección y las palabras clave.

3) Extracción de la información

A través de la interpretación minuciosa de cada estudio, se sustrajo la información requerida y necesaria de acuerdo a los objetivos planteados. Así como información relevante e importante de cada microorganismo.

4) Distribución de la información

Una vez obtenida la información seleccionada, se ordenó y clasifíco de acuerdo a la objetividad del estudio de este trabajo por tipo de microorganismo y tipo de estudio (conforme a los objetivos).

CAPÍTULO 5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los microorganismos que se presentan en este trabajo se encuentran en el Laboratorio de Bioquímica de la Universidad del Papaloapan, Campus Tuxtepec. A la fecha se han podido aislar e identificar tres cepas bacterianas: *Bacillus pumilus*, *Hafnia alvei* y *Pseudomona aeruginosa*; dos cepas de levaduras, *Candida parapsilosis* y *Rhodotorula sp.*; y siete cepas de hongos, *Acremonium sp.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp.*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium citrinum* y *Talaromyces sp.* En la tabla 2 se presentan los afluentes en los cuales fueron tomadas las muestras para aislar cada uno de los microorganismos y cuales fueron aislados en una solución de degradado de polietilentereftalato (PET).

Tabla 2. Fuentes de donde se aislaron los microorganismos (Galicia, 2013; Navarro *et al.*, 2021).

Microorganismos		Afluente (Tuxtepec, Oaxaca) / Solución
Bacterias	<i>Bacillus pumilus</i>	Arroyo Moctezuma.
	<i>Hafnia alvei</i>	Arroyo Moctezuma
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Río Papaloapan
Levaduras	<i>Candida parapsilosis</i>	Laguna Lindavista
	<i>Rhodotorula sp.</i>	Degradado de Polietilentereftalato
Hongos	<i>Acremonium sp.</i>	Degradado de Polietilentereftalato
	<i>Talaromyces sp.</i>	Degradado de Polietilentereftalato
	<i>Aspergillus niger</i>	Degradado de Polietilentereftalato
	<i>Fusarium sp.</i>	Degradado de Polietilentereftalato
	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Laguna Lindavista
	<i>Penicillium citrinum</i>	Arroyo San Jacinto
	<i>Aspergillus flavus</i>	Río Papaloapan

Los estudios que se han realizado principalmente a estos microorganismos en el Laboratorio de Bioquímica, involucran la resistencia que presentan al estar expuestos a diferentes concentraciones de metales pesados y su capacidad para crecer en soluciones de degradado alcalino de PET. En la tabla 3 se presentan los microorganismos que han mostrado resistencia a metales pesados y los que han sido capaces de crecer en el degradado de PET.

Tabla 3. Microorganismos resistentes a agentes tóxicos (Galicia-Apolinar, 2013; Navarro *et al.*, 2021).

Microorganismos		Metales pesados				Degradado de PET
		Plomo (Pb)	Cadmio (Cd)	Mercurio (Hg)	Cromo (Cr)	
Bacterias	<i>Bacillus pumilus</i>	X				
	<i>Hafnia alvei</i>	X	X	X		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	X	X	X	X	
Levaduras	<i>Candida parapsilosis</i>		X	X	X	
	<i>Rhodotorula sp.</i>					X
Hongos	<i>Acremonium sp.</i>					X
	<i>Aspergillus flavus</i>	X	X	X	X	
	<i>Aspergillus niger</i>					X
	<i>Fusarium sp.</i>		X	X		X
	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	X	X	X	X	
	<i>Penicillium citrinum</i>	X	X	X	X	
	<i>Talaromyces sp.</i>					X

En las siguientes páginas se detalla la información bibliográfica recopilada para cada microorganismo (bacteria, levadura u hongo); clasificación; características macroscópicas y microscópicas; hábitat; metabolismo; resistencia a agentes tóxicos y antibióticos. De la misma forma se describen los posibles mecanismos de defensa que presenta cada uno y la relación microorganismo-patología con el ser humano, animales y plantas.

BACTERIAS

▪ *Hafnia alvei*

Es un bacilo Gram negativo, con forma de bastón, anaerobio facultativo, móvil gracias a sus flagelos peritricos, no esporulado, de 1.0 μm de diámetro y de 2.0 a 5.0 μm de largo (Janda & Abbott, 2006; Baral *et al.*, 2019; Padilla-Castillo, 2001). Actualmente este microorganismo se sitúa en la familia denominada *Hafniaceae*, dentro del orden *Enterobacterales*, junto con otras dos especies, *H. paralvei* y *H. psychrotolerans* (De Frutos *et al.*, 2017; Huys *et al.*, 2010; Gu *et al.*, 2015). En la figura 18a se observa la tinción de Gram de *H. alvei* en un microscopio óptico (x63) y en la figura 18b se puede observar su morfología tras una tinción con ácido fosfotúngstico de una cepa clínica cultivada a 25 °C, utilizando microscopía electrónica de transmisión (TEM, x20.000) (Ramos, 2020; Sagar, 2018). De acuerdo con estudios realizados por Møller en 1954, las especies del género *Hafnia*, son capaces de crecer en medios que contengan de 2 a 5 % de cloruro de sodio (NaCl), una gama de pH de 4.9 a 8.25 y gradientes térmicos de 4 a 44 °C; la temperatura óptima para su crecimiento es 35 °C y no crecen por debajo de los 5°C (Møller, 1954). En el 2003 Padilla *et al.*, informaron que las actividades bioquímicas, metabólicas y enzimáticas, están íntimamente relacionadas con su temperatura de incubación, teniendo cierta actividad más intensa a 22°C que a 37°C. La figura 15 muestra algunas de sus características morfológicas.

Esta bacteria se encuentra en diferentes nichos ecológicos formados en el agua, el suelo y los alimentos. Forma parte de la flora gastrointestinal de los seres humanos y algunas especies de animales, como mamíferos, aves, reptiles, insectos y peces (Janda & Abbott, 2006).

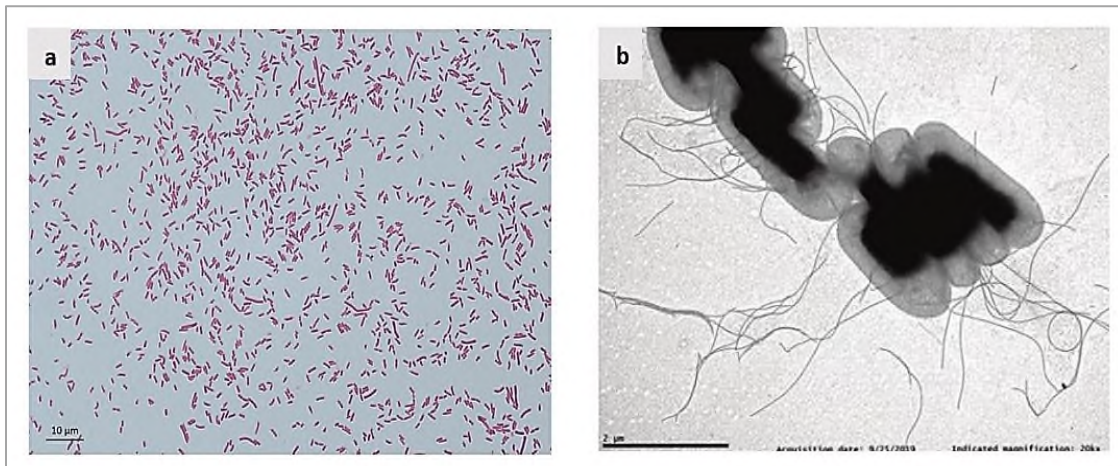


Figura 15. Características microscópicas de *Hafnia alvei* (Antoine, 2003; Ramos, 2020).

Presenta tanto metabolismo respiratorio como fermentativo (Padilla *et al.*, 2003). Para su identificación, *H. alvei* se diferencia de otros microorganismos a través de sus características propias, entre ellas, presenta oxidasa e indol negativo, catalasa y ornitina positivas; produce las enzimas nitrato reductasa y lisina decarboxilasa; tiene la capacidad para fermentar varios azúcares entre los que destacan maltosa, D-xilosa, trealosa, D-manitol, L-arabinosa, L-ramnosa, siendo incapaz de fermentar lactosa, rafinosa, D-sorbitol, inositol y adonitol (Janda & Abbott, 2006; Yarlagadda *et al.*, 2019). En la figura 16 se pueden observar algunas de las características bioquímicas que presenta *H. alvei*. Cuando crece en medios diferenciales, se pueden encontrar las siguientes características: en agar sangre presenta colonias no hemolíticas (Figura 16 a), en agar MacConkey se observa que las colonias no fermentan lactosa (Figura 16 b) y en agar nutritivo (NA) presenta colonias convexas grisáceas (Figura 15c) (Baral *et al.*, 2019). Todas estas características bioquímicas son importantes para realizar una correcta identificación de *H. alvei* en presencia de otras especies de su mismo género.

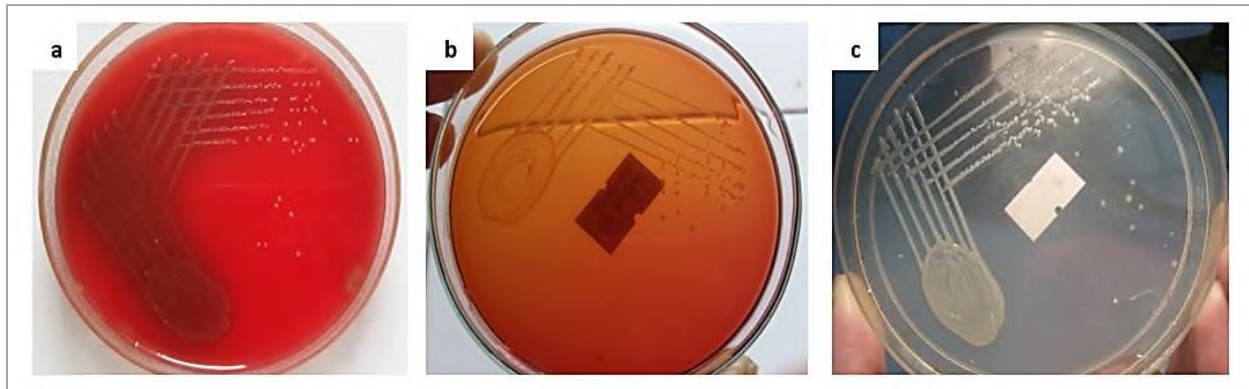


Figura 16. Características bioquímicas que presenta *H. alvei* (Baral *et al.*, 2019).

Debido a la versatilidad de este microorganismo de crecer a diferentes intervalos de temperatura y pH, se ha aislado en diversos productos alimenticios en los cuales produce principalmente su descomposición. Entre ellos se encuentran en el pulque de agave, la leche cruda y otros productos lácteos y el pescado crudo, entre otros (De Pasquale *et al.*, 2014; Deb & Jamir, 2018; Escalante *et al.*, 2004; Janda & Abbott, 2006). En 1977, un estudio realizado por Mourgues *et al.*, concluyó que dentro de la fabricación del queso camembert, *H. alvei* es la especie dominante. Además, informaron que *H. alvei* es psicotrofo, lo que permite que pueda crecer durante la fase de almacenamiento del queso, contrariamente a *E. coli* (Mourgues *et al.*, 1977). Lo anterior resulta alarmante, debido a que se ha informado y reportado que esta bacteria es actualmente considerada un microorganismo patógeno emergente en humanos y animales.

A continuación, se describe de manera general algunos estudios sobre la patogenicidad de esta bacteria. Dentro del área de la salud, anteriormente *H. alvei* se identificaba por métodos convencionales, pero era confundida fácilmente con miembros de otros géneros como *Serratia*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Yokenella*, *Obesumbacterium* o *Salmonella*. Por lo anterior fue necesario realizar técnicas moleculares para su identificación definitiva (Rodríguez *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 2006). Sin embargo, en el 2010 se introdujo una nueva especie de *Hafnia*, *H. paralvei* descrita por Huys *et al.*, la cual, probablemente, ya se había aislado anteriormente en muchas de las cepas previamente identificadas en la literatura como *H. alvei*. Debido a esto, fue necesario realizar una correcta identificación y clasificación entre *H. alvei* y *H. paralvei*. Para ello el equipo de Huys *et al.*, propuso y desarrolló una serie de pruebas bioquímicas, las cuales consistieron en la determinación de las enzimas y la identificación del metabolismo, generando técnicas para la determinación de: enzima β -glucosidasa, la utilización del malonato, la fermentación de la D-arabinosa, la fermentación de salicina (glucósido natural de color blanco y sabor muy amargo, con propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas) y la hidrólisis de la esculina (glucósido tóxico que se encuentra en el fruto del castaño de Indias (*Aesculus hippocastanum*) y en el Falso castaño de California (*Aesculus californica*). Los efectos que produce su ingesta son: espasmos, dolor de estómago, diarrea, desorientación e incluso la muerte). Así, *H. alvei* resulta positiva para la β -glucosidasa y para la utilización del malonato; y negativa para la fermentación de la D-arabinosa y variable para la fermentación de la salicina y para la hidrólisis de la esculina. Mientras que *H. paralvei* es negativa en casi todas las pruebas, excepto para la fermentación de la D-arabinosa, cuyo resultado es variable (Huys *et al.*, 2010). En el año 2015, el grupo de Gu, aisló, en el agua de un lago, una nueva especie denominada *H. psychrotolerans*, la cual se diferencia de las dos especies anteriores principalmente porque es aerobio, negativo a la lisina y ornitina descarboxilasas, positiva a la hidrólisis de esculina y positivo a la β -galactosidasa (Gu *et al.*, 2015).

La importancia de realizar una correcta diferenciación entre estas especies de *Hafnia* y *H. alvei*, está relacionado con el hecho de que se ha aislado frecuentemente en muestras hospitalarias (heces, esputo y orina), y en diversas superficies en los entornos hospitalarios, especialmente en dispositivos médicos permanentes. Debido a lo anterior, actualmente es considerada como un patógeno oportunista emergente de ahí la importancia de su estudio (De Frutos *et al.*, 2017; Janda & Abbott, 2006; Yarlagaadda *et al.*, 2019). En 1991, *H. alvei* fue considerada por primera vez como un enteropatógeno por Albert *et al.* Desde entonces se ha reportado que en humanos esta especie puede causar infecciones que incluyen: bacteriemia, septicemia, urosepsis, colecistitis gangrenosa, neumonía, endoftalmitis, en articulaciones, respiratorias, de heridas nosocomiales, del tracto urinario, síndrome urémico hemolítico y meningitis. Se le ha reconocido como agente causal en patologías extraintestinales, como peritonitis o abscesos. Aunque

H. alvei comparte algunos mecanismos de virulencia con otros enteropatógenos Gram negativos, se sabe poco sobre los factores que contribuyen a su patogénesis en humanos. Se ha descrito primordialmente en pacientes con cáncer, cirugía, trauma, enfermedad pulmonar aguda o crónica, cirrosis o hepatitis y pancreatitis. Los casos de diarrea debida a *H. alvei* se han producido principalmente en niños causando gastroenteritis aguda (Albert *et al.*, 1991; Günthard & Pennekamp, 1996; Janda & Abbott, 2006; Palaniswamy *et al.*, 2009; Yarlagadda *et al.*, 2019). Debido a su capacidad de formar biopelículas se adhiere fácilmente en dispositivos médicos permanentes, como catéteres venosos centrales o urinarios. Chapartegui *et al.*, reportaron que la formación de biopelículas en *H. alvei* aumenta durante su crecimiento a 28 ° C (Chapartegui *et al.*, 2016). Padilla *et al.*, informó que en animales puede producir abortos en yeguas en diferentes periodos de la gestación; en ovejas de raza Merino produce un cuadro de retraso en el crecimiento de la lana debido a una infección de la dermis, provocando un cuadro de hiperemia e infiltración celular en la dermis; en vacas es capaz de producir mastitis de tipo crónico; en aves de corral (gallinas ponedoras) produce una septicemia con bajada importante en la puesta, pérdida de apetito, opistótonos (afección en la cual el cuerpo se sostiene en una postura anormal y, por lo general, involucra rigidez y arqueamiento severo de la espalda, con la cabeza tirada hacia atrás) y muerte; en peces, como la trucha arcoíris produce brotes epizoóticos (grupo o conjunto de padecimientos o enfermedades de tipo contagiosa que puede afectar uno o varios animales, equivalente para los humanos a la epidemia) con septicemia hemorrágica, presentando los animales oscurecimiento de la piel, exoftalmía, hemorragias oculares y petequias cutáneas; en abejas (la especie animal en que más frecuente se aísla esta bacteria) está relacionada con casos de enfermedad y muerte provocando cuadros septicémicos; entre otros (Janda & Abbott, 2006; Padilla *et al.*, 2003).

En la patogenia de *H. alvei* participa el lipopolisacárido (LPS, endotoxina) que corresponde al antígeno *O*. Según la estructura del LPS de *H. alvei*, esta se ha dividido en 39 *O*-serotipos. El lipopolisacárido constituye el patrón molecular asociado a patógenos para la infección del huésped por bacterias Gram negativas y se encuentra entre los activadores naturales más poderosos del sistema inmunológico innato. Además, los antígenos *O*, los componentes de la pared celular de las bacterias Gram negativas, son responsables de su inmunoespecificidad (Lukasiewicz *et al.*, 2010; Mukherjee & Misra, 2008; Romanowska, 2000). Esto resulta interesante ya que a partir de estos estudios se intenta comprender cuales son los mecanismos patogénicos de este microorganismo y así poder proponer nuevas alternativas para obtener fármacos que puedan combatirlo.

En relación con la resistencia a antimicrobianos se ha reportado que *H. alvei* presenta susceptibilidad a piperacilina, quinolonas, carbapenémicos, cloranfenicol, cotrimoxazol aminoglucósidos y

monobactámicos; sensibilidad a amikacina, kanamicina, cloranfenicol, cefotaxima, cefepima, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacina, netilmicina, gentamicina, imipenem, meropenem, quinolonas, a la combinación trimetoprim/sulfametoxazol; y resistencia a ampicilina, cefalosporina, sulfamidas, estreptomina, tetraciclinas, ceftioxima, cefuroxima, penicilina, polimixina B, trimethoprim, neomicina, piperacilina, oxacilina y a las combinaciones amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam (Abbott *et al.*, 2011; Günthard & Pennekamp, 1996; Janda & Abbott, 2006; Palaniswamy *et al.*, 2009; Savini *et al.*, 2009; Yarlagadda *et al.*, 2019). En el 2009 Savini obtuvo cepas de *H. alvei* resistentes a colistina, un antibiótico de último recurso (Savini *et al.*, 2009). Además, se ha informado que *H. alvei* posee en su cromosoma una β -lactamasa inducible (clase C de Amber) con actividad cefalosporinasa, que generalmente confiere resistencia a aminopenicilinas y cefalosporinas de primera generación, pero no a cefalosporinas de tercera y cuarta generación. En 2010 Skurnik *et al.*, aislaron una cepa de *Hafnia* resistente a carbapenémicos (ertapenem, meropenem e imipenem) algo sumamente alarmante, ya que los carbapenémicos son prácticamente la última línea de defensa contra infecciones causadas por enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera y cuarta generación (Skurnik *et al.*, 2010; Yarlagadda *et al.*, 2019). En algunos estudios, como los realizados por Girlich *et al.*, y Nadjar *et al.*, se ha evidenciado una relación entre varias β -lactamasas AmpC cromosómicas de *H. alvei* y de otras enterobacterias, con cefalosporinasas plasmídicas presentes en especies homólogas o heterólogas, como *K. pneumoniae*. Por lo que estas especies podrían ser finalmente reservorios de cefalosporinasas codificadas en plásmidos, con el consiguiente peligro de diseminación de sus genes de resistencia (Girlich *et al.*, 2000; Nadjar *et al.*, 2000).

En 2006 Janda y Abbott reportan que *H. alvei* ha sido aislada de aguas residuales (Janda & Abbott, 2006). Esto podría constituir una de las causas por las cuales se induce su resistencia a condiciones medioambientales desfavorables. De acuerdo con la literatura cuando los microorganismos se encuentran en presencia de agentes tóxicos, estos generan mecanismos de defensa y/o resistencia para poder metabolizarlos y así sobrevivir bajo estas condiciones. Estos mecanismos por lo general se encuentran asociados a segmentos de material genético extracromosómico conocidos como plásmidos.

En el laboratorio de bioquímica, de la Universidad del Papaloapan, campus Tuxtepec, la cepa de *H. alvei* aislada en el afluente Arroyo Moctezuma, Tuxtepec, Oaxaca presenta resistencia a metales pesados. De acuerdo con estudios realizados en el 2013 por Galicia-Apolinar, *H. alvei* es capaz de crecer en concentraciones de hasta 1.95 mM de plomo (Pb) (Galicia-Apolinar, 2013). Pulido-Hernández estudiante de la Universidad antes mencionada, encontró que *H. alvei* fue capaz de crecer en medios de cultivo en presencia de cloruro de mercurio (HgCl_2) a concentraciones de 0.01 a 0.10 μM . De la misma forma, la cepa bacteriana creció en presencia de cloruro de cadmio (CdCl_2), en todas las concentraciones contempladas

en este estudio (0.05 a 6.59 μM) (Pulido-Hernández, 2022). Como se describió al inicio de este trabajo (en el apartado del marco teórico), el arroyo Moctezuma presenta un grado elevado de contaminación el cual se caracteriza por la presencia de residuos urbanos e industriales. Lo anterior podría influir en el desarrollo de la resistencia que presenta esta cepa de *H. alvei* al Pb, Hg y Cd. Además, este afluente también recibe residuos provenientes del sector de salud del IMSS, por lo que es de esperarse que *H. alvei* presente también resistencia a antibióticos, como se ha estado reportando en los últimos años. Se sabe que los plásmidos confieren resistencia a muchos agentes entre ellos los fármacos y los metales pesados por lo que la patogenicidad de esta bacteria podría amplificarse al poseer estas características. De manera adicional se ha observado que *Hafnia alvei* puede crecer en medios de cultivo a los cuales se les ha suministrado como fuente de carbono solo un degradado alcalino de PET, estudio que se encuentra en fase inicial.

▪ ***Bacillus pumilus***

Es un bacilo Gram positivo, aerobio, con forma de bastón, formador de esporas; frecuentemente se encuentra en el suelo y en el medioambiente marino donde compone la mayor cantidad de comunidades bacterianas junto con esponjas marinas, ascidias, corales blandos, entre otros (Ivanova *et al.*, 1999; Parvathi *et al.*, 2009; Zarza *et al.*, 2018). En la figura 17 a se observan colonias de *B. pumilus* crecido de agar nutritivo; en la figura 17 b se puede ver mediante imágenes de microscopio óptico la Tinción de Gram para *B. pumilus* (60x) y en la figura 17 c su morfología en forma de bastón (100X), respectivamente (Komala & Khun, 2014).

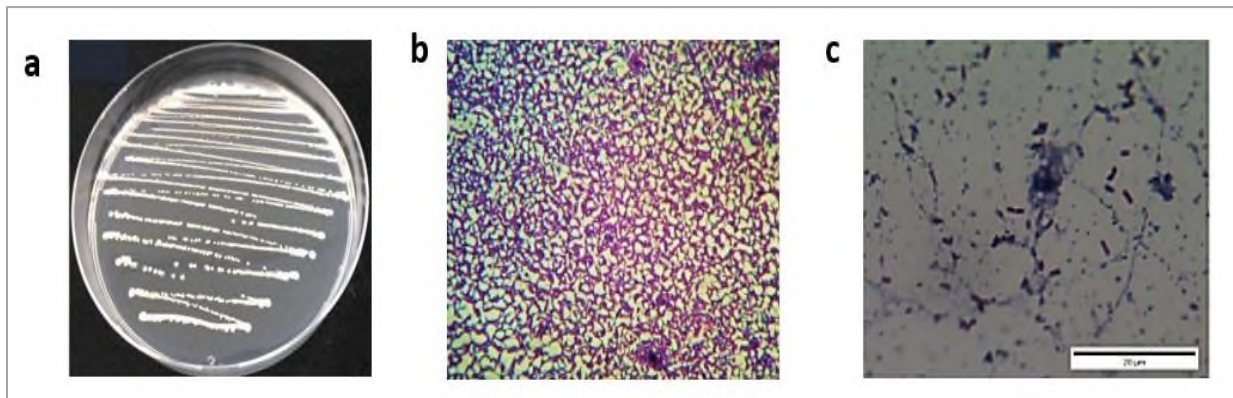


Figura 17. *Bacillus pumilus* observado mediante microscopio óptico (Komala & Khun, 2014; Mazlan *et al.* 2021).

En la figura 18 a se observan colonias de *B. pumilus* crecido en medio de cultivo Agar nutritivo y en la figura 18 b se muestra una imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) de *B. pumilus* (x10, 000). Las colonias presentan un color blanco nacarado con aspecto rugoso y presencia de anillos concéntricos de crecimiento y rodeadas por una zona de β -hemólisis después de 48 h de incubación en agar sangre de carnero al 5% (Ariffin *et al.*, 2006; Bottone & Peluso, 2003).

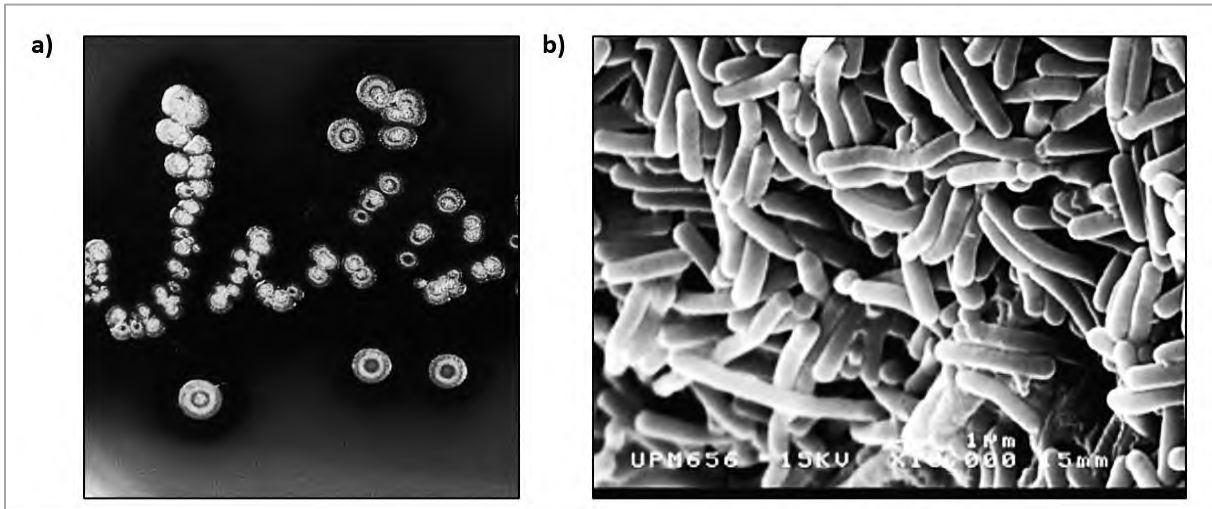


Figura 18. Características macro y microscópicas de *B. pumilus* (Ariffin *et al.*, 2006; Bottone & Peluso, 2003).

Dentro del área de la salud, Tena *et al.*, (2007), reportó 2 casos de infecciones cutáneas provocadas por *B. pumilus* las cuales resultaron ser muy parecidas a las ocasionadas por *B. anthracis*. Para diferenciar las dos especies, los científicos consideraron, entre las características microbiológicas y clínicas de los microorganismos, la morfología colonial, la motilidad de los bacilos, la hemólisis en agar sangre, el crecimiento en atmósfera anaeróbica, la hidrólisis del almidón, la actividad de lecitinasa (alfa-toxina, fosfolipasa C), la reducción de nitratos y la formación de ácido a partir de glicerol, glucógeno y manitol (Tena *et al.*, 2007). Este método de diferenciación les permitió establecer que efectivamente estaban reportando uno de los primeros casos de infección cutánea primaria debida a *B. pumilus*.

En la tabla 4 se resumen las características que diferencian a estos dos microorganismos. Como indica la tabla, por lo general *B. pumilus* crece como una colonia suave que se vuelve amarilla al aumentar el tiempo de incubación, es móvil, β -hemolítico en agar sangre, catalasa positivo, tolerante a la sal y no crece en condiciones anaeróbicas estrictas (Tena *et al.*, 2007).

Esto permite realizar una mejor diferenciación e identificación de *B. pumilus* con respecto a *B. anthracis* y otros microorganismos, pudiendo así asociarlo como agente patógeno en humanos. Ya que de acuerdo

con la literatura se sabe que las especies del género *Bacillus* (a excepción de *B. anthracis* y *B. cereus*) rara vez son asociados a infecciones clínicas. En relación con lo anterior, se ha informado que *B. pumilus* sí causa enfermedades tanto en seres humanos como en plantas. Se ha reportado que *B. pumilus* puede causar infecciones, que van desde cutáneas hasta bacteriemia potencialmente mortal, principalmente en individuos inmunodeprimidos y en recién nacidos (Kimouli *et al.*, 2012; Parvathi *et al.*, 2009; Yuan *et al.*, 2015). En el 2012 Kimouli *et al.*, informaron los dos primeros casos de sepsis grave en recién nacidos. Además, se registraron hasta el 2012, otros 18 casos de infecciones clínicamente significativas causadas por *B. pumilus*. Estas infecciones se dividen en tres grandes grupos: (1) diez casos de infecciones del torrente sanguíneo (nueve casos en adultos y un caso en un niño de 8 años); (2) tres casos de infecciones cutáneas; y (3) cinco casos de intoxicación alimentaria, caracterizados por síndromes eméticos y diarreogénicas inducidos por toxinas (Kimouli *et al.*, 2012).

Tabla 4. Características microbiológicas y clínicas presentes en *B. pumilus* y *B. anthracis* (Tena *et al.*, 2007).

Características	<i>B. pumilus</i>	<i>B. anthracis</i>
Colonia en Agar sangre	Colonia suave que se vuelve amarillo con aumento de incubación	Blanco grisáceo a blanco
Motilidad	+	-
Hemólisis en Agar sangre	+	-
Susceptibilidad a penicilina	+	+
Producción de catalasa	+	+
Forma de la spora	Cilíndrica, elipsoidal	Elipsoidal
Posición de la spora	Central o paracentral, subterminal	Subterminal
Crecimiento anaeróbico	-	+
Crecimiento en NaCl al 7%	+	+
Reacción Voges-Proskauer	+	+
Lecitinas	-	+
Hidrolisis de almidón	-	+
Producción de indol	-	-
Reducción de nitrato	-	+
Ácido de glicerol	+	-
Ácido de glicógeno	-	+
Ácido de manitol	+	-
Infección cutánea	ampolla serohemorrágica	Pústula maligna
Otras infecciones	Bacteriemia	Ántrax intestinal, ántrax pulmonar, meningitis

Nota: (+): presente y (-): ausente

Entre los factores de riesgo de bacteriemia por *B. pumilus* en adultos, se asocian: el uso de catéter venoso central; el cáncer particularmente neoplasias hematológicas y anestesia espinal. Mientras que, en recién nacidos, entre los factores de riesgo se pueden incluir: la nutrición parenteral total prolongada; la ventilación mecánica; el cateterismo de la vena umbilical y el uso de catéteres intravasculares a largo plazo (Kimouli *et al.*, 2012). En 1991 Hoult y Tuxford, reportaron que *B. pumilus* presenta propiedades tóxicas, ya que tiene efectos citopáticos en las células Vero; actividad hemolítica; producción de lecitinasa y acción proteolítica sobre la caseína. También informaron que lo anterior puede deberse a que el microorganismo produce una toxina que se ha detectado en sus estudios en cobayas con enterocolitis inducida experimentalmente asociada con clindamicina. Ellos encontraron que en los filtrados preparados a partir de cultivos adicionados con infusión cerebro-corazón de seis aislados de *B. pumilus* produjeron agregación de células suprarrenales Y1 en cuatro horas y lisis celular después de 18 horas (Hoult & Tuxford, 1991). En el 2005 From *et al.*, reportaron que *B. pumilus* también produce pumilacidina que es un compuesto tóxico, el cual ha sido implicado en casos de intoxicación alimentaria (From *et al.*, 2005; Parvathi *et al.*, 2009).

De acuerdo con lo anterior, los alimentos pueden considerarse como una fuente de intoxicación debido a que esta bacteria se encuentra presente en muchos de ellos y, de acuerdo a lo que se ha reportado, podría afectar principalmente a individuos inmunodeprimidos (Kimouli *et al.*, 2012; Parvathi *et al.*, 2009; Yuan *et al.*, 2015). Se han realizado diferentes estudios sobre la respuesta de *B. pumilus* hacia varios antibióticos. Como consecuencia, se ha reportado que presenta sensibilidad a penicilina, ampicilina, imipenem, vancomicina, eritromicina, levofloxacina, clindamicina y trimetoprima/sulfametoxazol (Kimouli *et al.*, 2012). Lo anterior es importante, ya que, si no se hace una adecuada identificación del microorganismo, al tratarse con los antibióticos anteriores y no uno de mayor espectro, con el tiempo este bacilo generará resistencia hacia estos y otros antibióticos.

Este microorganismo es también considerado un patógeno de plantas, debido a que en el 2015 el equipo de Yuan reportó que se puede reproducir en el jengibre; en el árbol de mango, y está asociado con la muerte regresiva de hojas y ramitas de perales asiáticos. De acuerdo con sus estudios a través de la secuenciación y caracterización del tercer genoma GR8 completamente secuenciado de *B. pumilus*, el investigador demostró que el microorganismo puede ocasionar la enfermedad de la pudrición del rizoma del jengibre al invadir los tejidos parenquimatosos, crecer en el espacio extracelular y producir enzimas que degradan la pared celular de las plantas, para destruir las células del tubérculo mencionado. En la figura 19 se indican las proteínas involucradas en la infección del rizoma de jengibre por la cepa GR8 en cada etapa, y también se muestran sus funciones (Yuan *et al.*, 2015).

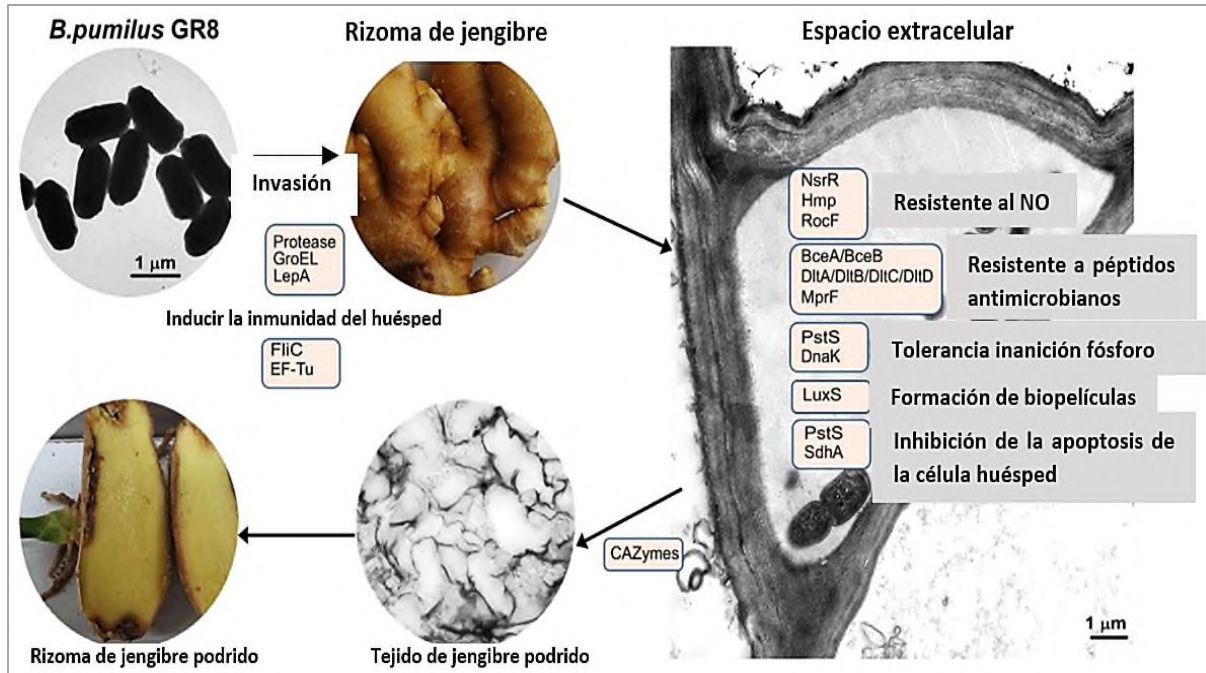


Figura 19. Patogenicidad de la cepa GR8 de *B. pumilus* en el rizoma del jengibre (Yuan *et al.*, 2015).

Bacillus pumilus es una bacteria que posee varias características que le ayudan a su desarrollo en presencia de otros microorganismos o agentes patógenos y tóxicos. Relacionado con lo anterior, se ha observado que como productos de su metabolismo se derivan varias sustancias inhibitoras como antibióticos, enzimas hidrolíticas y compuestos volátiles que a menudo son activos contra un amplio espectro de patógenos fúngicos. Los compuestos antifúngicos inhiben el crecimiento micelial y la producción de micotoxinas de varios hongos. Estos compuestos son termoestables y activos en una amplia gama de valores de pH (Bottone, 2003; Heidarzadeh, 2016; Munimbazi & Bullerman, 1998). Esto permite considerar a *B. pumilus* como alternativa para la producción de estos compuestos de manera natural, para el control de otros microorganismos. Recientemente en el 2019 Chu y sus colaboradores aislaron e identificaron tres nuevos compuestos antibacterianos producidos por *B. pumilus* mediante fermentación. De acuerdo con los datos que obtuvieron por resonancia magnética nuclear (RMN) y espectrometría de masas (MS), se determinó que los compuestos fueron: a) 3,4-dipentilhexano-2,5-diol; b) 1,1'-(4,5-dibutilciclohexano-1,2-diil) bis (etan-1-ol) y c) 1,1'-(4,5-dibutil-3,6-dimetilciclohexano-1,2-diil) bis (etan-1-ona). En la figura 20 se presenta la estructura de cada compuesto (Chu *et al.*, 2019).

Además, se ha visto que los compuestos, mencionados en el párrafo anterior, producen potentes efectos inhibitorios contra varias especies bacterias patógenas, como: *Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Micrococcus luteus* CMCC28001, *Variant Salmonella gallinarum* CVCC79207, *Pasteurella multocida*

CVCC474, Swine Salmonella, Salmonella enterica ATCC13076 y Chicken Escheri colcheri Kichia colcher (Chu et al., 2019). Previamente, en el año 2018 Zarza et al., informaron que algunas cepas de *B. pumilus* antagonizan a otras bacterias y alteran la estructura y arquitectura de las biopelículas bacterianas (p. Ej., *Vibrio*, *Bacillus* y *Pseudomonas*) (Zarza et al., 2018). Esto resulta ser innovador y una alternativa más para el uso de estos compuestos en la obtención de antibióticos con mayor espectro.

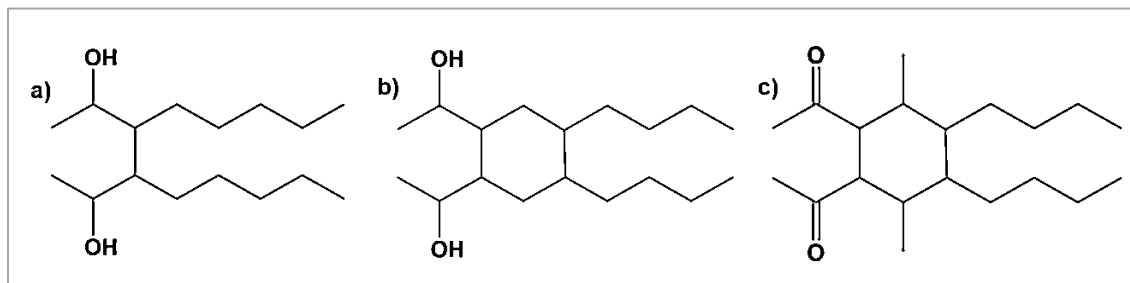


Figura 20. Compuestos antifúngicos producidos por *B. pumilus* (Chu et al., 2019).

Debido a su capacidad de formar esporas y resistir un rango variable de condiciones medioambientales, se puede adaptar fácilmente a distintos hábitats y sobrevivir en condiciones adversas, como: baja o nula disponibilidad de nutrientes, exposición a la luz ultravioleta, desecación, presencia de oxidantes como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y desinfectantes químicos (Parvathi et al., 2009; Zarza et al. 2018).

Lo anterior está relacionado con la respuesta que presenta *B. pumilus* al encontrarse en condiciones desfavorables. A partir de 1995 Gunther y colaboradores realizaron estudios donde reportaron y aislaron de aguas subterráneas contaminadas, cepas de *B. pumilus* capaces de crecer sobre fenol y cresol como única fuente de carbono y energía. Las células de esta cepa pre-cultivadas en fenol pudieron utilizar *para*-cresol como única fuente de carbono a través de la oxidación del sustituyente metil y la escisión del anillo intradiol del ácido protocatecuico resultante, mientras que una fisión del anillo intradiol del intermedio 4-metilcatecol condujo a 4-metilmuconolactona como producto final sin salida. Las células precultivadas en *meta* y *orto*-cresol pudieron utilizar estos compuestos como única fuente de carbono a través del 3-metilcatecol, que indujo fisión del anillo extradiol, y a su vez condujo al producto final 2-metilmuconolactona (Gunther et al., 1995).

Mientras que en el 2007 Hua et al., reportaron que *B. pumilus* es capaz de biotransformar isoeugenol (uno de los componentes principales del aceite esencial del clavo) en vainillina como producto principal, con un rendimiento molar del 40.5%. La vainillina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído), es considerado como uno de los sabores más importantes y se usa ampliamente en la industria alimentaria. De acuerdo con este

estudio se propuso que la biotransformación del isoeugenol a vainillina ocurre cuando la vainillina se oxida a ácido vainílico y luego a ácido protocatecuico antes de que se rompa el anillo aromático. Estos hallazgos sugieren que el isoeugenol se degrada a través de una vía epóxido-diol (Hua *et al.*, 2007). En la figura 21 se presenta la vía propuesta de la biotransformación del isoeugenol en vainilla.

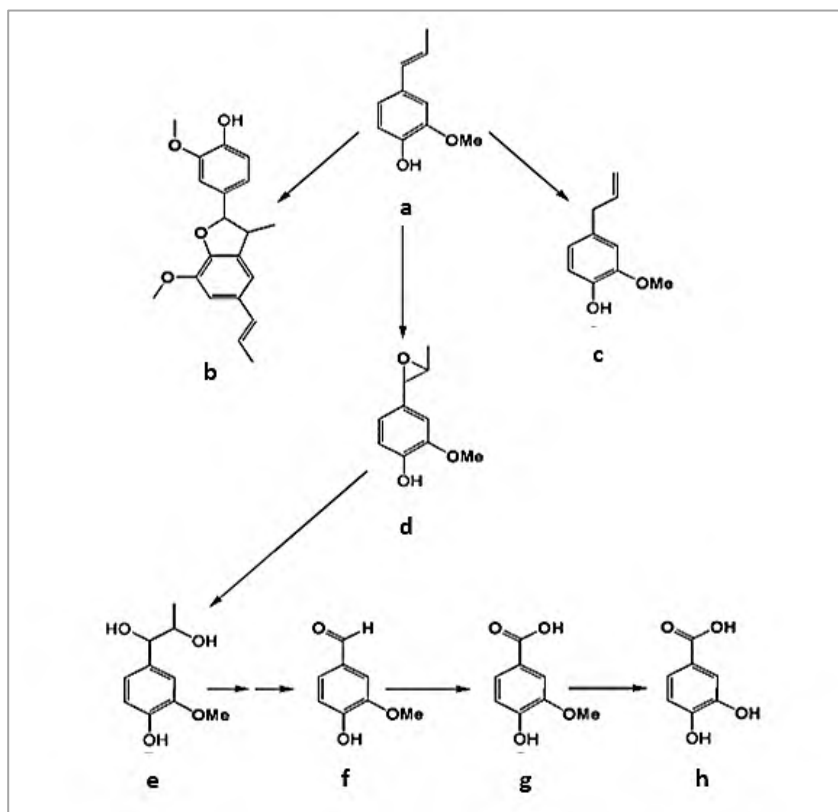


Figura 21. Vía metabólica propuesta del isoeugenol de la cepa S-1 de *B. pumilus*. a) isoeugenol; b) deshidroisoeugenol; c) eugenol; d) isoeugenol-epóxido; e) isoeugenol-diol; f) vainillina; g) ácido vainílico; h) ácido protocatecuico (Hua *et al.*, 2007).

Debido a su alta capacidad de producir vainillina, las enzimas queratinasa, xilanas, serina proteasa alcalina y varias otras sustancias bioactivas de *B. pumilus* se utilizan ampliamente en procesos industriales, entre ellos la producción de varios alimentos fermentados tradicionales; el tratamiento de aguas residuales y además para la degradación de contaminantes ambientales.

Diversos estudios han reportado la resistencia que presenta esta bacteria a metales pesados como cromo (Cr), plomo (Pb), cadmio (Cd) y mercurio (Hg) (Pineda & Rodríguez, 2005; Santana-Flores *et al.*, 2020). En el 2008, estudios realizados por el grupo de Jaysankar, reportaron varias cepas de bacterias marinas resistentes a metales pesados, entre ellas tres cepas de *B. pumilus* aisladas en varios lugares a lo largo de la costa de la India. Estas cepas presentaron una alta capacidad de desintoxicación no solo de Hg, sino también de Cd y

Pb. De acuerdo con sus resultados, los mecanismos de desintoxicación de los metales pesados se llevaron a cabo a través de la volatilización (para Hg); el posible atrapamiento en la sustancia polimérica extracelular (para Hg, Cd y Pb) y/o precipitación como sulfuro (para Pb). Estas bacterias eliminaron más del 70% de Cd y 98% de Pb dentro de las 72 y 96 h, respectivamente, del medio de cultivo que tenía concentraciones iniciales de cada metal a 100 ppm. La eficiencia de desintoxicación de Hg, Cd y Pb indica un buen potencial para su aplicación en la biorremediación de metales pesados tóxicos (Jaysankar *et al.*, 2008).

Por otro lado, estudios realizados en el 2012 por Raja y Omine, reportaron varias especies del género *Bacillus* con potencial resistencia a varios metales pesados, en un antiguo sitio minero. Entre estas especies ellos aislaron cepas de *B. pumilus* que mostraron resistencia a arsénico (As III y V), cromo (Cr VI), cobre (Cu), níquel (Ni), plomo (Pb) y zinc (Zn). Lo anterior fue asociado al hecho de que las bacterias Gram positivas tienen una mayor capacidad para unirse metales que las bacterias Gram negativas debido a las diferencias en la estructura de la pared celular. También encontraron, usando la prueba de nitrato de plata, que las bacterias son oxidantes de As. Además, en este mismo estudio realizaron la tolerancia a la sal mediante utilizando el medio TSA (agar tripticasa de soja) suplementado con NaCl sólido (% p/v) para todos los microorganismos. Interesantemente, *B. pumilus* mostró un 15 % de tolerancia a la sal en comparación con las demás bacterias (Raja & Omine, 2012).

Además, recientemente en el 2020 Dai *et al.*, reportaron la potencialidad de *B. pumilus* vivo en la biosorción de radionúclido de estroncio (Sr^{2+}). Ellos demostraron la capacidad de biosorción de *B. pumilus* a Sr^{2+} , generando además un aumento de la eficiencia de biosorción de 46.09% a 94.69% (Dai *et al.*, 2020). Por lo que *B. pumilus* puede considerarse como una alternativa para la biorremediación de suelos contaminados por compuestos radioactivos.

De acuerdo con informes anteriores, varias cepas de *B. pumilus* se utilizan como probióticos para animales (Yuan *et al.*, 2015).

También se ha reportado el uso de *B. pumilus* como ingrediente activo en fungicidas agrícolas (Xin *et al.*, 2016). Recientes estudios han propuesto y considerado a *B. pumilus* como agente potencial para el control biológico de los siguientes fenómenos: la marchitez del tomate por *Fusarium*; la disminución de la infección fúngica causada en hojas de banano (*Musa*) por *Pseudocercospora fjiensis*; el tizón tardío de la papa (*Solanum tuberosum*) causado por *Phytophthora infestans* y para combatir la enfermedad por pudrición de la raíz del garbanzo (*Cicer arietinum L.*), causada por el nematodo Agallador *meloidogyne incognita* y el hongo de la pudrición de la raíz *Macrophomina phaseolina* (Cruz *et al.*, 2018; Heidarzadeh & Baghaee, 2016; Sayeed & Siddiqui, 2008; Wang *et al.*, 2020).

Adicionalmente cuando *B. pumilus* se encuentra en tejido vegetal sano tiene propiedades para promover el crecimiento de las plantas al mejorar la absorción de nutrientes, la fijación de nitrógeno, la interacción con microorganismos simbióticos y la producción de agentes antimicrobianos, como lipopéptidos cíclicos antifúngicos (surfactina) y fengicina contra bacterias y hongos patógenos (Cruz *et al.*, 2018; Heidarzadeh & Baghaee, 2016; Wang *et al.*, 2020;).

Con todo lo anteriormente expuesto se podría suponer que este microorganismo representa un riesgo para la salud de los habitantes de la región de Tuxtepec, Oaxaca, ya que este microorganismo también ha sido aislado del Arroyo Moctezuma. En relación con lo anterior, estudios realizados en el 2013 por Galicia-Apolinar en *B. pumilus* demostraron que este fue capaz de crecer en concentraciones de hasta 1.95 mM de plomo (Pb), es decir, que presenta resistencia a dicho metal (Galicia-Apolinar, 2013). Como anteriormente ya se ha reportado, esta bacteria al parecer ha generado resistencia a diversos metales pesados y aunque aún se desconoce como lo hace, se considera que esto es debido a la estructura de su pared celular.

▪ ***Pseudomonas aeruginosa***

Es un bacilo Gram negativo, aerobio facultativo, no formador de esporas, tiene forma de bastón de aproximadamente 0.5-1 μm de diámetro y 1.5-5 μm de largo, es móvil gracias a su flagelo polar. Pertenecer a la clase γ -proteobacteria, orden *Pseudomonadales* y familia *Pseudomonadaceae*. Es capaz de colonizar una gran variedad de nichos ecológicos, sobre todo los medios húmedos y a temperaturas de 25°C y 37°C. Se encuentra principalmente formando parte del ambiente en el agua y suelo, aunque se ha detectado como parte de la flora normal corporal en humanos (Bravo-Burguillos, 2018; Wu *et al.*, 2015).

Pseudomonas aeruginosa se caracteriza por ser parte del grupo de microorganismos no fermentadores que tienen en común la incapacidad de fermentar lactosa, con la capacidad de utilizar fuentes de carbono y nitrógeno como acetato y amoníaco respectivamente, obteniendo energía a partir de la oxidación de azúcares (Milagro, 2012). En figura 22 j se puede observar su forma de bacilo y en la figura 22 h se muestra que dentro de sus características bioquímicas presenta oxidasa positiva. Presentan un color característico verde brillante debido a su producción de los pigmentos piocianina, de color azul (Figura 22 b y f), y pioverdina, un pigmento amarillo verdoso soluble en agua, que le confiere un color amarillo fluorescente (Figura 22 a, c, d1 y d2). Cuando la pioverdina se combina con la piocianina, se crea el color verde brillante característico de *P. aeruginosa* (Figura 22c) (Luján, 2014; Sapkota, 2021). Estas características bioquímicas permiten la identificación de *P. aeruginosa*.

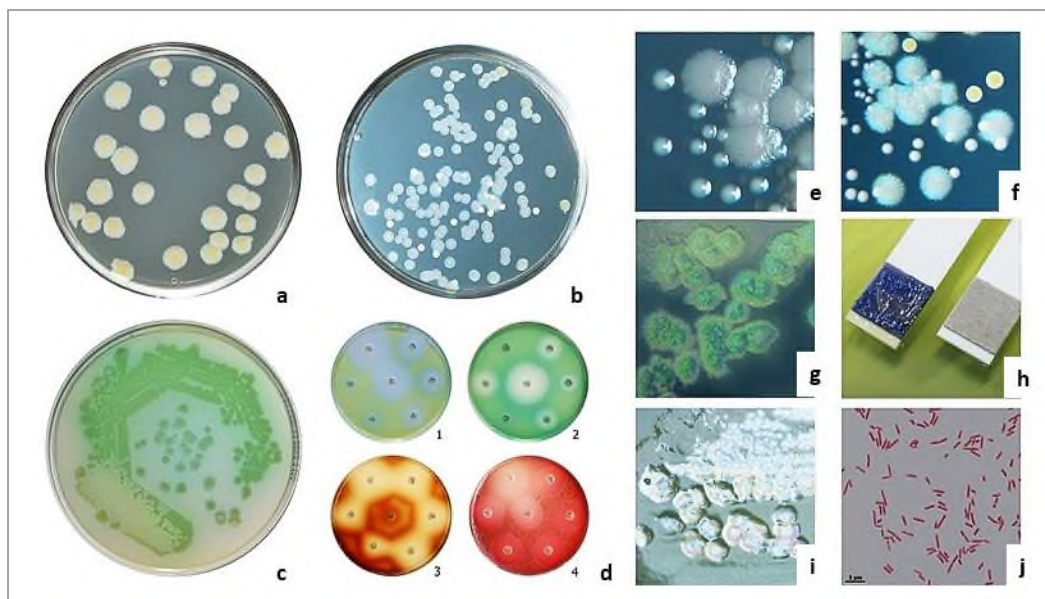


Figura 22. Características bioquímicas que presenta *P. aeruginosa* (Sapkota, 2021).

Algunas cepas rara vez producen otros pigmentos como piomelanina marrón (Figura 22 d3) o piorrubrina roja (Figura 22 d4). Para el aislamiento y la identificación presuntiva a partir de muestras clínicas y ambientales se utiliza un agar selectivo que contenga ceftrimida (La ceftrimida está formada principalmente por bromuro de tetradeciltrimetilamonio, y además puede contener pequeñas cantidades de bromuro de dodeciltrimetilamonio y bromuro de hexadeciltrimetilamonio. Posee una alta actividad bactericida sobre bacterias grampositivas y gramnegativas) para poder observar la aparición de colonias de color amarillo verdoso (Figura 22g) (Luján, 2014; Sapkota, 2021).

Dentro del área de la salud una caracterización clínica definitiva de *P. aeruginosa* incluye, tanto la identificación de la producción de pirocianina y fluoresceína, como determinar su capacidad de crecer a 42 °C. A menudo es identificada de modo preliminar por su apariencia perlada y olor a uvas *in vitro* (Luján, 2014). Ochoa *et al.*, informo que debido a que es un microorganismo altamente versátil, capaz de tolerar condiciones bajas de oxígeno, sobrevivir con bajos niveles de nutrientes y crecer en rangos de temperatura de 4 a 42°C e inclusive superiores, puede adherirse y sobrevivir en equipos médicos y en otras superficies hospitalarias (Ochoa *et al.*, 2013). Por lo que, frecuentemente se ha encontrado en las manos de los trabajadores de salud, aumentando el nivel de contagio en pacientes. Fue aislada en un cultivo puro de heridas cutáneas por primera vez en 1882 por Gessard (Luján, 2014).

Actualmente *P. aeruginosa* es considerada un patógeno oportunista en humanos y, en algunas especies de plantas y animales. En humanos puede causar neumonías, infecciones del tracto urinario, inmunocomprometidos con cáncer y bacteriemias, así como una alta morbilidad y mortalidad en

pacientes con fibrosis quística, debido a las infecciones crónicas que eventualmente conducen a un daño a nivel pulmonar e insuficiencia respiratoria. Las infecciones por *P. aeruginosa* son difíciles de erradicar debido a su elevada resistencia intrínseca y su capacidad para adquirir resistencia a diversos antibióticos (Bravo, 2018; Ochoa *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2014). Además, este microorganismo tiene la capacidad de formar biopelículas (comunidades de microorganismos incluidos en una matriz extracelular que crecen adheridos a una superficie, siendo así menos susceptibles al tratamiento con antimicrobianos), proporcionándole una barrera física contra la entrada de agentes antimicrobianos lo que dificulta aún más la erradicación de estas bacterias. Se ha reportado que las bacterias dentro de la biopelícula se encuentran en un estado inactivo (metabólicamente menos activas) y, por lo tanto, relativamente insensibles a los agentes antimicrobianos y al estrés ambiental (Bravo, 2018; Prithiviraj *et al.*, 2005, Walker *et al.*, 2004). Hasta el momento, los aislamientos de *P. aeruginosa* han sido clasificados en 20 serotipos por el Esquema Internacional de Tipificación Antigénica (IATS). El lipopolisacárido (LPS) de *P. aeruginosa* es menos tóxico que el de otros bacilos Gram negativos, lo que facilita su establecimiento en infecciones crónicas al provocar una respuesta inflamatoria baja. Los pili de tipo IV (T4P) son las principales adhesinas asociadas a la virulencia de *P. aeruginosa* y son los que median la unión a las células huésped, generando una forma de translocación superficial llamada motilidad de contracción. Pero también tiene funciones que tienen que ver con su biopelícula, formación de micro colonias, adhesión, evasión inmune, transformación de ADN, señalización celular y fijación de fagos. Además, T4P puede desencadenar las defensas inmunitarias del huésped y es un objetivo de vacuna. Por lo que la interrupción de T4P da como resultado una reducción de la virulencia de *P. aeruginosa*. Es decir, juega un papel importante en su adherencia a las células epiteliales del huésped, ya que alrededor del 90% de su capacidad de adhesión a las células huésped depende de T4P (Wu *et al.*, 2015). Debido a esta característica, *P. aeruginosa* es considerada un modelo para el estudio de biopelículas debido a su mayor tolerancia a los antimicrobianos (Chiang & Burrows, 2003).

En plantas induce síntomas de putrefacción de las raíces, como en *Arabidopsis thaliana* (berro), *Ocimum basilicum* (albahaca dulce) y *Lactuca sativa* (lechuga). En animales es considerado un potente patógeno como en *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila* y *Galleria mellonella*. Se ha reportado que las asociaciones de factores de virulencia son los mismos para infecciones vegetales y animales. También *P. aeruginosa* es capaz de causar infecciones graves en especies hospedadoras no mamíferas como insectos y nematodos (Prithiviraj *et al.*, 2005; Walker *et al.*, 2004).

Se ha reportado que *P. aeruginosa* es resistente, tanto de manera natural como adquirida, a un gran número de antimicrobianos como cefalosporinas de primera y segunda generación, ampicilina, tetraciclina, eritromicina, kanamicina, estreptomomicina, carbapenemasas (amikacina acetiltransferasas)

tetraciclinas, ciprofloxacina, cloranfenicol y macrólidos (Gómez *et al.*, 2005; Livermore, 2002; Prithiviraj *et al.*, 2005; Raja *et al.*, 2006). Estos mecanismos de respuesta, han sido atribuidos a las características que presenta su membrana celular, la cual tiene propiedades excepcionales de impermeabilidad.

La resistencia a los antibióticos usualmente activos sucede en el medio hospitalario. Las cepas pueden transmitirse entre ellas el material genético que media la resistencia, incluso a partir de otras bacterias Gram negativas como las enterobacterias. Otro factor preocupante es la capacidad de *P. aeruginosa* de tornarse resistente en el curso del tratamiento antibiótico. Los mismos antibióticos son capaces de inducir los mecanismos de resistencia que un aislamiento tiene latentes. Otras sustancias como el zinc, componente de una clase de catéteres urinarios, pueden inducir cambios moleculares que activan la resistencia a imipenem (antibiótico carbapenémico). Se ha evidenciado que en 10.2% de los tratamientos para *P. aeruginosa* puede emerger una cepa resistente que antes del tratamiento era sensible. Esta inducción de resistencia varía dependiendo de cada antibiótico. Por ejemplo, ceftazidima, una cefalosporina de tercera generación con actividad anti-*pseudomonas*, tiene el más bajo riesgo de inducir resistencia en bacterias previamente sensibles a ceftazidima; en contraste, imipenem presenta la más alta tasa de emergencia de resistencia después del tratamiento. Los principales mecanismos de resistencia en *P. aeruginosa* comprenden: presencia de β -lactamasas y alteraciones de la permeabilidad de membrana dadas por la presencia de bombas de expulsión y las mutaciones de las porinas transmembranales (Gómez *et al.*, 2005). La tabla 5 muestra las clases de β -lactamasas presentes en esta bacteria.

Tabla 5. β -lactamasas de espectro extendido presentes en *Pseudomonas aeruginosa* (Livermore, 2002).

Enzima	País donde fue encontrada	Sitio de codificación	Fenotipo asociado por antibiótico						Inhibición	
			Carb-Tic	Pip-Azl	Czid	Cpm	Atm	Imi-Mero	Clv	Taz
PER-1	Turquía (principalmente), Italia, Francia.	Plásmido o cromosoma	R	r	R	R	R	S	F	D
OXA-11,14,16	Turquía	Integrone en plásmidos o cromosomas	R	R	R	R	R	S	D	D
IMP-1/8	Japón	Integrone en plásmidos o cromosomas	R	R	R	R	S	r/R	No	No
Tipos VIM	Italia (VIM-1), Francia, Grecia y Corea (VIM-2), Taiwán (VIM-8)	Integrone en plásmidos o cromosomas	R	R	R	R	S	r/R	No	No

Nota: Azl: azlocilina. Carb: carbenicilina. Clv: clavulanato. Cpm: cefepime. Imi: imipenem. Czid: ceftazidime. Mero: meropenem. Pip: piperacilina. r: susceptibilidad reducida. R: franca resistencia, puede variar dependiendo de los puntos de cortes usados, la cantidad de enzima producida y la permeabilidad de la cepa. S: susceptible. Taz: tazobactam. Tic: ticarcilina. F: Fuerte y D: Débil.

En el 2015 Meloquero *et al.*, realizaron un estudio sobre los cambios morfológicos y estructurales en aislados de *P. aeruginosa* después de ser expuesto a un antibiótico. En estos estudios realizaron la evaluación mediante microscopía electrónica tanto de barrido (SEM) como de transmisión (TEM) considerando dos cepas que denominaron como *P. aeruginosa* sensible (Pa ATCC) y resistente (Pa 1071) a meropenem. De acuerdo con sus resultados en la figura 23 se observan los cambios que presenta cada cepa a través de TEM; los incisos a y c muestran la cepa Pa ATCC en ausencia de tratamiento a las 3 y 12 horas, respectivamente; los paneles b y d muestran la cepa Pa ATCC expuesto a 0.5 de meropenem como concentración inhibitoria mínima (CMI) durante 3 y 12 horas, respectivamente; los incisos e y g muestran la cepa Pa1071 en ausencia de tratamiento a las 3 y 12 horas, respectivamente y, finalmente las imágenes f y h muestran la cepa Pa1071 expuesto a 0.5 de meropenem como CMI a las 3 y 12 horas, respectivamente. En estas fotografías se observaron interesantes cambios morfológicos como el redondeo del bacilo y la destrucción de la pared celular como consecuencia de la exposición a meropenem (Meloquero *et al.*, 2015).

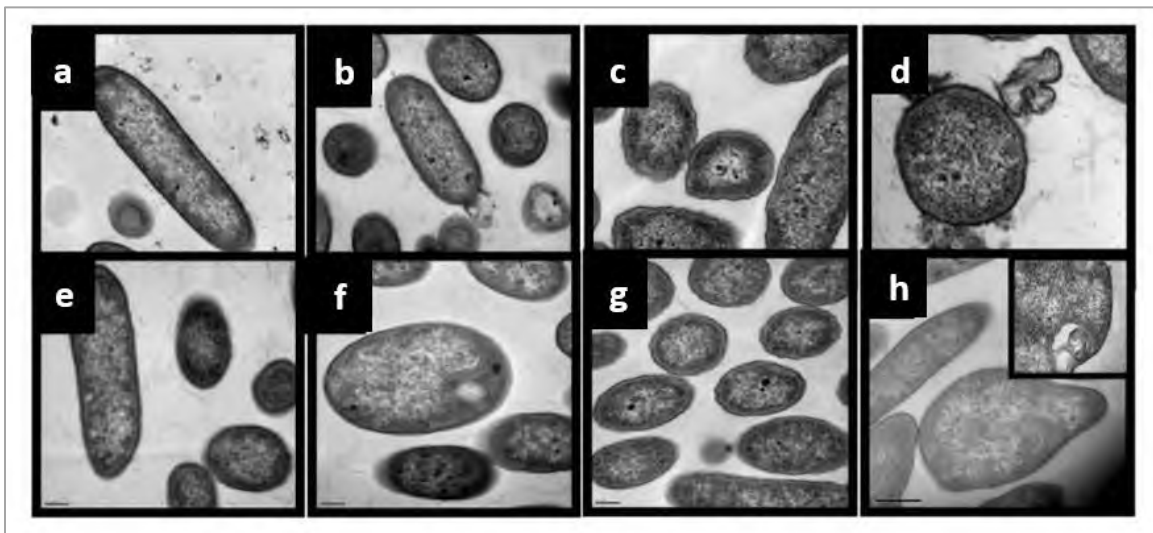


Figura 23. Electromicrografías de *P. aeruginosa* obtenidas por Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM, 60 000x) (Meloquero *et al.*, 2015).

Mientras que en la figura 24, incisos a y c se muestra la cepa Pa ATCC en ausencia de tratamiento a las 3 y 12 horas, respectivamente; los incisos b y d muestran la cepa Pa ATCC expuesto a 0.5 de meropenem como CMI a las 3 y 12 horas, respectivamente; los paneles e y g muestra la cepa Pa 1071 en ausencia de tratamiento a las 3 y 12 horas, respectivamente y las imágenes f y h muestran la cepa Pa 1071 expuesta a 0.5 de meropenem como MIC a las 3 y 12 horas, respectivamente.

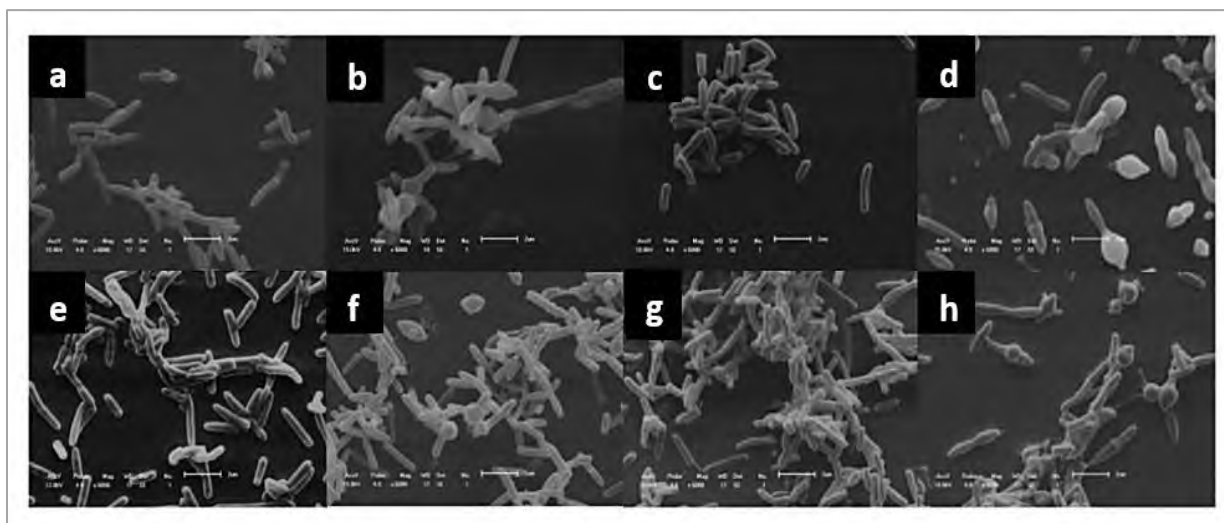


Figura 24. Electromicrografías de *P. aeruginosa* obtenidas por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, 60 000X) (Meloquero *et al.*, 2015).

El redondeo del bacilo fue el principal cambio que observaron por SEM. Además, la muestra bacteriana resistente mostró un mayor porcentaje de alteración morfológica, destacándose un acúmulo interno de la pared celular, lo que puede sugerir un intento de adaptación bacteriana a la acción antimicrobiana (Meloquero *et al.*, 2015).

Además, *P. aeruginosa* tiene la capacidad de producir una serie de proteasas (proteasa alcalina, proteasa IV) y elastasas, enzimas capaces de degradar múltiples proteínas inmunoreguladoras, incluyendo las proteínas surfactantes A y D, el complemento, inmunoglobulinas y péptidos antibacterianos. También se ha reportado que es capaz de crecer en combustibles como queroseno o gasóleo, ya que puede nutrirse a partir de hidrocarburos (Pérez *et al.* 2006). Probablemente esto se deba a su capacidad de producir ramnolipidos, un tipo de biotensoactivo que está formado por un glucósido de β -hidroxidecanoil- β -hidroxidecanoato y dos moléculas de ramnosa. El cual, desde la década de 1950, ya era utilizado en procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos y metales pesados. En la figura 25 a se observa microorganismo productor de biotensoactivo y partícula de suelo con microporos contaminada con hidrocarburos; mientras que en la figura 25 b hidrocarburos poco volátiles, de alto peso molecular e hidrófobos, tales como los policíclicos aromáticos, que se intemperizan en la materia orgánica y matriz del suelo al interior de los microporos, siendo inaccesibles para los microorganismos. Los biotensoactivos hacen biodisponibles a los contaminantes al establecer un equilibrio de desorción-solubilización, desplazan preferentemente el equilibrio hacia la fase acuosa y permiten que se lleven a

cabo los diferentes procesos de transporte (difusivo y convectivo) y consumo para la biodegradación de los contaminantes (Jiménez, *et al.*, 2010).

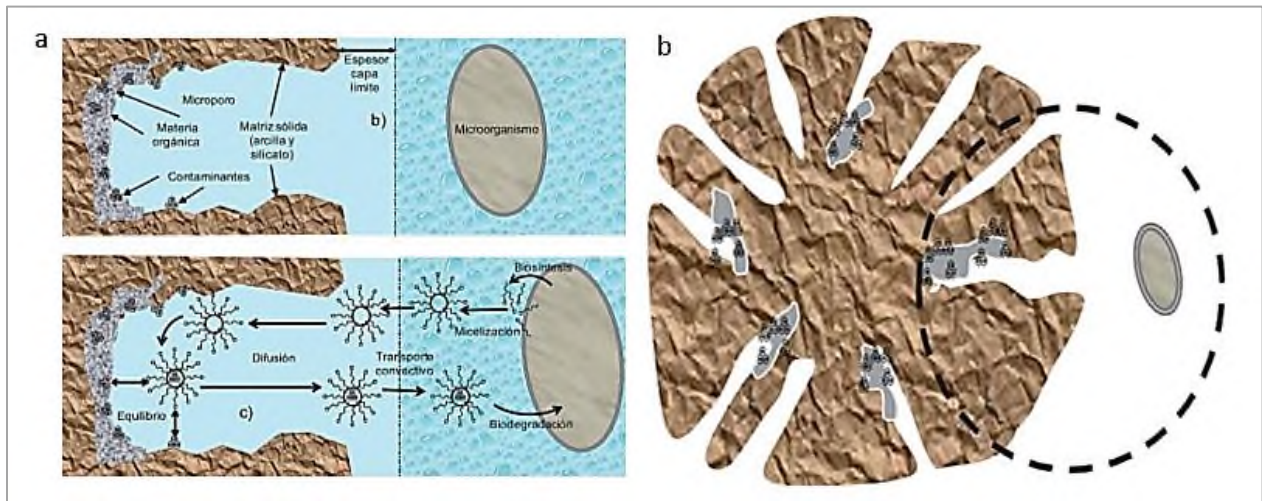


Figura 25. Efecto de los biotensoactivos en la biodegradación de contaminantes en suelos y sedimentos (Jiménez, *et al.*, 2010).

Se ha demostrado que en sistemas acuosos donde existen compuestos hidrofóbicos, la adición de biotensoactivos incrementa su solubilidad. En 1985 Chakrabarty *et al.*, fueron de los primeros en reportar una cepa de *P. aeruginosa* aislado de aguas marinas, capaz de producir un ramnolípido que dispersa rápidamente hidrocarburos en gotas muy pequeñas, lo que ha hecho de este microorganismo uno de los principales agentes bióticos para la remediación de costas contaminadas con hidrocarburos (Jiménez *et al.*, 2010).

En estudios realizados en el 2006 por Pérez *et al.*, de una cepa de *P. aeruginosa* aislada de suelos contaminados de la Refinería Hermanos Díaz (Santiago de Cuba), observaron su crecimiento sobre petróleo crudo, aceite lubricante, naftaleno, tolueno y queroseno como única fuente de carbono y energía. De acuerdo con sus resultados la actividad de biodegradación de la cepa alcanzó el 81% para el petróleo crudo (Pérez *et al.* 2006).

En el 2003 Teitzel y Parsek, estudiaron los efectos de los metales pesados Cu, Pb y Zn en las biopelículas y plantónicas (que vive suspendido/flotando en la columna de agua) de *P. aeruginosa*, observando que la bacteria presenta mayor resistencia en las biopelículas que los plantónicos. Teitzel y Parsek suponen que esto puede deberse a que el polímero extracelular que encierra a la biopelícula, puede ser responsable de proteger las células del estrés de los metales pesados al unirse a estos y retardar su difusión dentro de la biopelícula (Teitzel y Parsek, 2003). Mientras que en el 2006 Raja *et al.*, aislaron y caracterizaron una cepa

de *P. aeruginosa* resistente a metales pesados. De acuerdo con sus resultados, ellos reportaron que *P. aeruginosa* es capaz de absorber 93 % Ni, 65 % Pb, 50 % Cd y 30 % Cr en 48 h del medio que contenía 100 mg de cada metal pesado por litro. La tolerancia a múltiples metales de esta cepa se asoció con la resistencia a antibióticos como ampicilina, tetraciclina, cloramfenicol, eritromicina, kanamicina y estreptomicina, los cuales se realizaron también en este estudio (Raja *et al.*, 2006).

Recientemente, en el año 2018 Chellaiah realizó un estudio sobre el uso de *P. aeruginosa* como biosorbente adecuado para la eliminación del Cd y otros metales pesados en agua y suelo, debido a su resistencia a estos (Chellaiah, 2018). En el 2008, estudios realizados por Jaysankar *et al.*, reportaron varias cepas de bacterias marinas resistentes a metales pesados, entre estos una cepa de *P. aeruginosa* (y *B. pumilus* ya descrito anteriormente) aislada en varios lugares a lo largo de la costa india. Estas cepas presentaron potencial de desintoxicación no solo de Hg, sino también de Cd y Pb (Jaysankar *et al.*, 2008).

En la Universidad del Papaloapan por Rodríguez-Robledo realizó varios estudios en la cepa *P. aeruginosa* aislada del río Papaloapan y sus resultados han demostrado que la bacteria presenta diferente resistencia a metales pesados a los que ha sido expuesta en medios de cultivo a diferentes concentraciones. Para el Hg, las concentraciones que toleró se encuentran en el intervalo de 0.01 a 6.59 μM ; las de cadmio oscilan entre 0.1 a 0.5 μM ; los valores de las concentraciones de cromo fueron 0.005 a 1.95 μM y finalmente las de plomo estuvieron entre 0.1 y 0.75 μM (Rodríguez-Robledo). Como se puede ver, la tolerancia a estos metales es función del tipo de elemento al que la bacteria sea expuesta. De acuerdo con la literatura, esto puede deberse a los mecanismos de resistencia que ha desarrollado frente a agentes tóxicos, antibióticos y a los metales pesados expresados, posiblemente por plásmidos inducidos desde su medio ambiente nativo.

LEVADURAS

▪ *Candida parapsilosis*

Es una especie de hongo levaduriforme, perteneciente a la familia *Saccharomycetaceae*. Es un microorganismo diploide morfológicamente caracterizado por células redondeadas, ovales o alargadas y producción de pseudohifas (o pseudomicelios), e incapaz de formar hifas verdaderas. Su tamaño oscila entre 2.5-4 μm de diámetro y 2.5-9 μm de largo, siendo sus colonias de color blanco, cremoso y de aspecto brillante, que puede ser lisa o rugosa (Sánchez *et al.*, 2013; Treviño *et al.*, 2012). En la figura 26 se observa su morfología en un microscopio óptico (1000x).

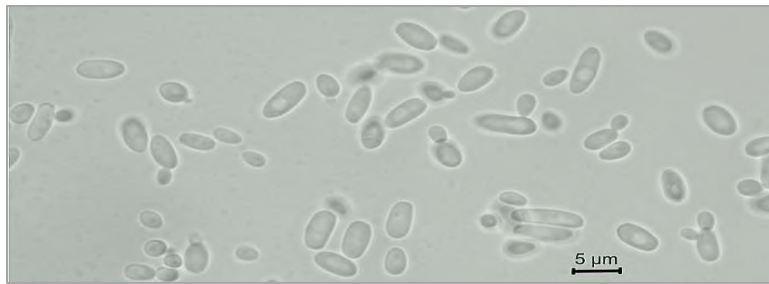


Figura 26. Morfología de *C. parapsilosis* (Kordowska-Wiater *et al.*, 2017).

En la figura 27 a, se pueden observar colonias de aproximadamente 2mm de diámetro de *C. parapsilosis* cultivadas en agar nutritivo durante 48 h. Mientras que en la figura 27 b, se observa una imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM, 5000x) de *C. parapsilosis*, la cual se obtuvo mediante la preparación combinada de las dos técnicas: fijación química y liofilización (utilizando microsistemas Leica ACE600) (Mokobi, 2020). Se observa en su fase micelar, en donde adquiere una morfología parecida a la de los bacilos o los cocobacilos.

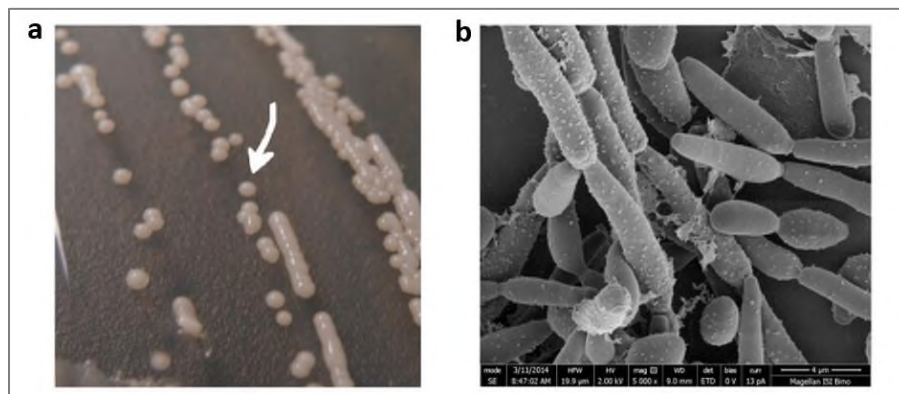


Figura 27. Cultivo e imagen de microscopía electrónica de barrido de *C. parapsilosis* (Mokobi, 2020).

En el 2005 Laffey y Butler, describieron cuatro morfotipos diferentes para *C. parapsilosis*: crepe, concéntrica, lisa y cráter. El fenotipo de la colonia va ligado a la morfogenia de la levadura, donde los fenotipos crepe (Figura 28 a) y concéntrico (Figura 28 b) están compuestos principalmente por pseudohifas, mientras que los fenotipos lisos (Figura 28 c) y cráter (Figura 28 d) están compuestos principalmente por células levaduriformes. De acuerdo con sus resultados, informaron que las pseudohifas de *C. parapsilosis* se encuentran vinculadas de manera importante a un conjunto específico de aminoácidos, particularmente citrulina, la cual origina cambios importantes en la morfología celular y colonial del microorganismo (Laffey y Butler, 2005; Sánchez *et al.*, 2013; Treviño *et al.*, 2012).

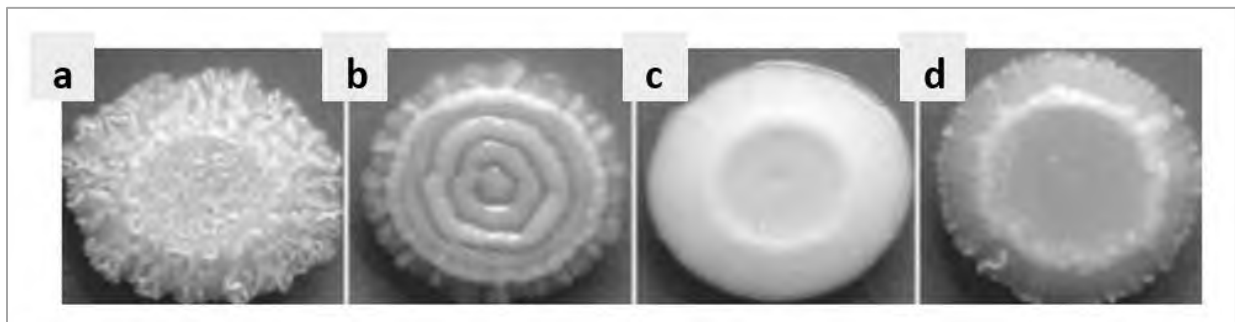


Figura 28. Diferentes morfologías coloniales obtenidas a partir de un aislado clínico de *C. parapsilosis* (Laffey y Butler, 2005; Sánchez *et al.*, 2013).

La forma de las colonias de *C. parapsilosis* y *C. albicans* se diferencia microscópicamente por la presencia de pseudohifas largas y curvadas denominadas células gigantes en *C. parapsilosis* (Sánchez *et al.*, 2013).

Candida parapsilosis presenta requerimientos nutritivos relativamente simples, pudiendo crecer sobre un sustrato mineral que contenga una fuente de carbono como glucosa u otros azúcares (la levadura es incapaz de asimilar y fermentar la lactosa y la maltosa); nitrógeno (como sales de amonio), fosfato, azufre y algunos cationes divalentes, (Sánchez *et al.*, 2013; Treviño *et al.*, 2012).

Desde 1991 Carruba y colaboradores, informaron que *C. parapsilosis* es considerada como un microorganismo ubicuo en el medio ambiente natural, por lo que se ha encontrado tanto en suelos como en ambientes marinos (Carruba *et al.*, 1991). Sin embargo, *C. parapsilosis*, fue aislada por primera vez en 1928 por Ashford en Puerto Rico, a partir de las heces de un paciente con diarrea. Fue descrito como una especie de *Monilia parapsilosis* en ese entonces y no era considerado como un patógeno. Pero se ha encontrado habitualmente como comensal en tejidos epiteliales y mucosas de los seres humanos. Se ha aislado frecuentemente en dispositivos médicos tales como catéteres intravasculares, líneas de nutrición parenteral, entre otros dispositivos prostéticos. Debido a esto *C. parapsilosis* es considerada un

importante patógeno emergente, asociada de manera creciente a infecciones como: candidemia, endocarditis, meningitis, peritonitis, artritis, fungemia, pancreatitis (principalmente necrosis y abscesos pancreáticos), endoftalmítis, otomicosis, onicomosis y vulvovaginitis, por lo que resulta muy importante realizar más estudios acerca de este microorganismo. Las infecciones causadas por *C. parapsilosis*, pueden ocurrir sin colonización previa del patógeno, transmitiéndose horizontalmente a través de fuentes contaminadas externas, tales como dispositivos médicos, las manos de trabajadores sanitarios, prótesis, catéteres venenosos, etc. El aumento de las infecciones debidas a *C. parapsilosis*, se ha atribuido a una amplia variedad de factores de riesgo, incluida la gran capacidad selectiva del organismo para crecer en soluciones de hiperalimentación ricas en glucosa, empleadas en hospitales como nutrición parenteral y a la habilidad del microorganismo para adherirse al plástico. Los pacientes inmunocomprometidos, como los afectados por VIH/SIDA y aquellos que son sometidos a procedimientos quirúrgicos, especialmente los sometidos a una cirugía extensiva del tracto gastrointestinal, presentan un riesgo elevado de infección por *C. parapsilosis* (Sánchez *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2012; Treviño *et al.*, 2012). Sin embargo, la población más sensible a sufrir infecciones nosocomiales por dicha levadura, es la de los neonatos con muy bajo peso al nacer o por otros factores de riesgo como la necesidad de cateterismo vascular, nutrición parental, terapia inmunosupresora, trasplante y neutropenia. La capacidad de diferentes aislamientos de *C. parapsilosis* para causar enfermedad en varios tejidos puede encontrarse influenciada por su habilidad para formar biopelículas y la secreción de enzimas hidrolíticas (por ejemplo, proteasas, fosfolipasas y hemolisinas) (Pemán & Quindós, 2016; Sánchez *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2012; Treviño *et al.*, 2012). También se ha aislado de animales domésticos, insectos o de diversos hábitats como el suelo y ambientes marinos (Sánchez *et al.*, 2013; Treviño *et al.*, 2012).

Además, en el 2012 Treviño y su grupo de investigación reportaron que *C. parapsilosis* es la única especie en mostrar resistencia *in vitro* a fluconazol y las equinocandinas (caspofungina, micafungina y anidulafungina- son lipopéptidos que inhiben el crecimiento fúngico al unirse a la β -(1,3) d glucano sintetasa, enzima esencial para la síntesis en la pared celular de hongos). Presenta una concentración mínima inhibitoria (CIM) más alta a equinocandinas, por lo que se han establecido distintos puntos de corte para esta familia de antifúngicos (Tapia & Correa, 2015; Treviño *et al.*, 2012).

Aunque existen pocos estudios sobre la resistencia de *C. parapsilosis* a metales, en el 2019 Bansal *et al.*, realizaron estudios donde presentaron el perfil de resistencia a metales pesados de *C. parapsilosis*. Realizaron estudios de tolerancia basados en el tiempo usando concentraciones de hasta 12 mM de sales de metales pesados como sulfato de zinc ($ZnSO_4$), sulfato cúprico ($CuSO_4$), acetato de plomo ($Pb(C_2H_3O_2)_2$), cloruro de mercurio ($HgCl_2$), sulfato de níquel ($NiSO_4$) y cromato de potasio (K_2CrO_4). Donde observaron

que la tolerancia a los metales pesados depende de su concentración y del tiempo de exposición. El patrón de resistencia que obtuvieron para cada metal pesado individual fue Ni > Zn > Cu > Cr > Pb > Hg. En los cuales obtuvieron un crecimiento máximo del 57,6 % para el NiSO₄ y el mínimo para el HgCl₂ con una viabilidad celular del 26,9 % a una concentración de 12 mM., También observaron que la viabilidad celular disminuía a medida que aumentaba el tiempo de exposición. Después de 72 h, solo obtuvieron un crecimiento celular del 16,4 % para el HgCl₂ en comparación con el NiSO₄, que mostró una viabilidad celular del 37,5 % hasta una concentración de 12 mM. Además *C. parapsilosis* también mostró una resistencia significativa a otras sales como ZnSO₄, CuSO₄, K₂CrO₄ y Pb (C₂H₃O₂)₂. De acuerdo con sus resultados informaron el uso de *C. parapsilosis* para la remediación de metales pesados como Zn, Cu, Pb, Hg, Ni y Cr. De acuerdo con lo informado con Pal & Paul, aunque no se sabe muy del todo como surge esta resistencia por parte de los microorganismos, se sabe que ellos producen sustancias responsables de la remediación de metales. Las sustancias poliméricas extracelulares (EPS) de origen microbiano son una mezcla compleja de biopolímeros compuesta por polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos, ácidos urónicos, sustancias húmicas y lípidos, responsables de la remediación de metales pesados (Pal & Paul, 2008). Estudios realizados por Vázquez-Velasco con una cepa de *C. parapsilosis* aislada de la Laguna Lindavista ubicada en la ciudad de Tuxtepec, Oaxaca, han demostrado que esta levadura fue capaz de crecer en presencia de Cr y Pb, pero de acuerdo con sus resultados, *C. parapsilosis* presento mayor tolerancia al Pb que al Cr a concentraciones de 0 a 6.59 mM. También evaluó el crecimiento de *C. parapsilosis* en presencia de Hg y Cd, donde nuevamente observo que creció poco, pero presentó mayor tolerancia al Hg que al Cd a concentraciones de 0 a 0.33 mM. Mientras que estudios realizados por Pulido-Hernández con la misma cepa, mostraron que *C. parapsilosis* fue capaz de crecer en medios de cultivo en presencia HgCl₂ a concentraciones de 0.01 a 3 µM y del CdCl₂ a concentraciones de 0.05 a 0.24 µM (Pulido-Hernández). Lo cual significaría que esta bacteria solo es capaz de tolerar pequeñas concentraciones de estos metales. Sin embargo, hace falta la realización de más estudios con esta levadura, mismo que ayudarán a evaluar su sensibilidad o resistencia a los metales pesados y con ello poder vislumbrar algunas de sus propiedades metabólicas y toxicológicas.

- ***Rhodotorula sp.***

Es un género de levaduras pigmentadas unicelulares, perteneciente a la división *Basidiomycota* y a la familia *Cryptococcaceae* e incluye 38 especies. Son levaduras con blastoconidios de color rosa a rojo, unicelulares que son de 2-4 µm de diámetro, ovoides o ligeramente alargados, monogemantes de base

estrecha, sin pseudohifas ni hifas, solo en ocasiones excepcionales forma pseudohifas. Producen colonias de crecimiento rápido (maduran en aprox. 4 días), con un tamaño de 2-3 cm de diámetro, que presentan un color rosa coral, aunque pueden llegar a ser rojas o naranjas con aspecto suave, lisa, húmeda y algunas veces de aspecto mucoide (Bonifaz, 2012; Larone, 2011; Marova *et al.*, 2011, Pereira *et al.*, 2019). Por lo general, son fáciles de identificar por sus distintivas colonias anaranjadas/rojas cuando se cultiva en agar dextrosa Sabouraud (SDA). Este color distintivo es el resultado de los pigmentos que crea la levadura para bloquear ciertas longitudes de onda de luz, que abarca de 620–750 nm, y que, de lo contrario, dañarían la célula. En la figura 29 a se observan colonias de *R. mucilaginoso* en agar Sabouraud con 2 % de glucosa y en la figura 29 b una imagen células de *R. mucilaginoso* con tinción de azul de metileno en un microscopio óptico (400x) (Wikipedia, 2021).

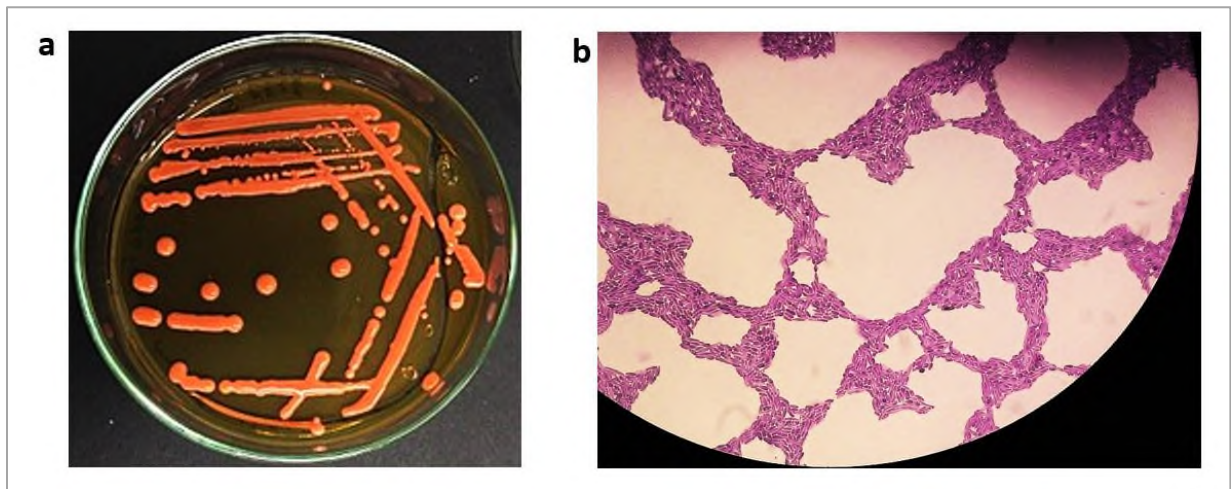


Figura 29. Colonias en agar Sabouraud y tinción de levaduras del género *Rhodotorula* (Wikipedia, 2021).

Las especies de *Rhodotorula* tienen algunas similitudes morfológicas y fisiológicas con *Cryptococcus* spp., pero se diferencian de ellas por la producción de pigmentos carotenoides y por la incapacidad de asimilar el inositol (Pereira *et al.*, 2019). Para diferenciar las especies dentro de este género, se utiliza la prueba de asimilación de maltosa. Donde algunas veces *R. mucilaginoso* lo asimila, *R. glutinis*, siempre lo asimila y *R. minuta*, no la asimila. Aunque *R. minuta* en algunas ocasiones asimila la lactosa, a diferencia de las otras dos especies (Larone, 2011).

Las especies de *Rhodotorula* son levaduras saprofitas ubicuas que se encuentran en diferentes ecosistemas y ambientes (aire, suelo, lagos y agua del océano) (Maharana & Singh, 2017; Wirth & Goldani, 2012). Sin embargo, varios autores han informado que también están presentes en humanos como en la piel y en las uñas, la orina, las heces, las mucosas, etc. Así como en cortinas de ducha, bañeras y cepillos de

dientes. Además, presenta una fuerte afinidad por el plástico, por lo que también ha sido aislada de varios equipos médicos, como equipos de diálisis, broncoscopios de fibra óptica, entre otros (García *et al.*, 2010; Krzysciak & Macura, 2010; Wirth & Goldani, 2012). De ahí la importancia del estudio de especies del género *Rhodotorula* sp como patógenos oportunistas emergentes que causan infecciones tanto en humanos, como en animales y plantas.

Anteriormente, el género *Rhodotorula* se consideraba no patógeno, pero recientemente han surgido varias especies como patógenos fúngicos oportunistas que pueden ser responsables de infecciones localizadas e invasivas, especialmente en pacientes inmunodeprimidos (Pereira *et al.*, 2019). Dentro de las cuales *R. mucilaginosa*, *R. glutinis* y *R. minuta* se ha confirmado que pueden producir enfermedades en humanos (García *et al.*, 2010; Wirth & Goldani, 2012; Pfaller *et al.*, 2009). *Rhodotorula mucilaginosa* se ha aislado comúnmente de alimentos y bebidas, como cacahuets, sidra de manzana, cerezas, frutas frescas, zumos de frutas, queso, salchichas, moluscos comestibles y crustáceos. Aunque no se ha reportado que el consumo de alimentos contaminados con esta levadura pueda tener un papel directo en la generación de infecciones oportunistas, existe una preocupación creciente de que los alimentos puedan ser una fuente subestimada de patógenos ambientales. Sin embargo, como consecuencia directa de la amplia exposición a *Rhodotorula* en el entorno hospitalario, los pacientes que tienen un sistema inmunológico deprimido pueden desarrollar Rhodotorulosis, causando una variedad de infecciones sistémicas. De hecho, *Rhodotorula* es uno de los microorganismos más comúnmente aislado de las manos de los empleados de hospitales y de los pacientes. En este aspecto, *Rhodotorula* se han aislado de muestras de heces, lo que indica que estas levaduras pueden sobrevivir en las condiciones extremas del tracto gastrointestinal. Aún no se sabe si *Rhodotorula* es capaz de pasar del tracto gastrointestinal al torrente sanguíneo en pacientes inmunocompetentes (García *et al.*, 2010; Tuon & Costa, 2008; Wirth & Goldani, 2012). De acuerdo con un estudio realizado en el 2009 por Pfaller *et al.*, en una revisión sistémica de 128 casos de infecciones por *Rhodotorula*, el 79% fueron aislados en sangre, el 7% en infecciones oculares y el 5% en peritonitis, asociadas a diálisis peritoneal ambulatoria continua. Las especies que con mayor frecuencia se relacionan con infecciones en seres humanos son *Rhodotorula mucilaginosa*, *R. glutinis* y *R. minuta* (Pfaller *et al.*, 2009). La mayoría de los casos de fungemia provocadas por *Rhodotorula* se asocian con el uso de catéter venoso central en pacientes con neoplasias hematológicas, endocarditis, peritonitis, meningitis y endoftalmitis. También se han reportado infecciones localizadas sin fungemia, como endoftalmitis, onicomicosis, meningitis, infecciones de prótesis articulares y peritonitis (generalmente asociadas con diálisis peritoneal continua) en pacientes inmunodeprimidos e inmunocompetentes (García *et al.*, 2010; Tuon & Costa, 2008; Wirth & Goldani, 2012). En los casos de infección por *Rhodotorula*, las células de levadura se verifican mediante

examen directo. Es decir, mediante su cultivo en SDA donde las colonias son húmedas, brillantes, suaves a mucoides y de color rosa salmón a rojo coral, como ya se había indicado anteriormente. En la figura 30 a se observa un ejemplo del crecimiento de una cepa de *Rhodotorula* que presenta colonias húmedas, brillante, mucoides y de rosa salmón después de 5 días de crecimiento en SDA a 25°C. Mientras que microscópicamente, las células de la levadura se identifican como cortas y ovoides, con o sin pseudohifas. En la figura 30 b se observa una imagen de *Rhodotorula* en un microscopio de barrido (SEM, 4000x) mostrando células de levadura globosas aisladas y en gemación, con pseudohifas (Pereira *et al.*, 2019).

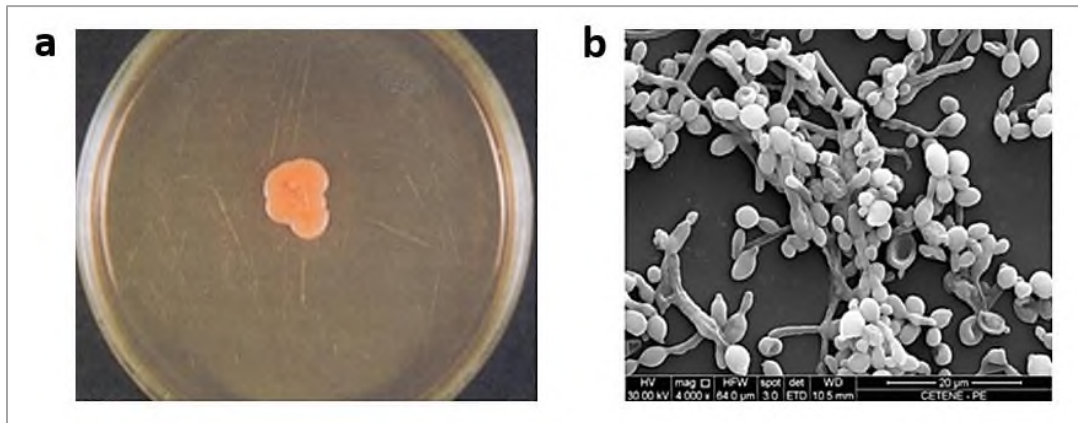


Figura 30. Características macroscópicas y microscópicas de las especies de *Rhodotorula* (Pereira *et al.*, 2019).

Las características macro y microscópicas de las especies de *Rhodotorula* involucradas en infecciones humanas se describen en la Tabla 6 (Pereira *et al.*, 2019).

Tabla 6. Descripción de las características macroscópicas y microscópicas de especies de *Rhodotorula* (Pereira *et al.*, 2019).

Especie	Características macroscópicas del cultivo	Características microscópicas del cultivo.
<i>R. glutinis</i>	Las colonias en SDA a 25°C son rosadas, lisas y tienen una apariencia húmeda.	En harina de maíz después de 72 h de incubación, solo se producen células de levadura globosas de 3–5 µm de diámetro. Ocasionalmente se observan pseudohifas.
<i>R. minuta</i>	Las colonias en SDA a 25°C son rosadas, lisas y brillantes, pero no mucoides.	En la harina de maíz después de 72 h de incubación, solo se producen células de levadura globosas de 2,3–6,5 µm de diámetro.
<i>R. mucilaginosa</i>	Las colonias en SDA a 25 °C varían de naranja a rosa a coral y son de suaves a rugosas y de opacas a brillantes.	En harina de maíz después de 72 h de incubación, solo se producen células de levadura globosas de 2,5–10 µm de diámetro.

Entre los reportes sobre la patogenicidad de *Rhodotorula sp.*, en animales; García *et al.*, informaron sobre un brote de infecciones cutáneas en pollos y de una infección pulmonar en ovejas, ambos causados por *R. mucilaginosa*. También se mencionó que *Rhodotorula* es un agente causante de la epididimitis, lesiones cutáneas en un león marino y dermatitis en un gato que presentaba lesiones con costras y mastitis. En aves informaron a *Rhodotorula* como agente colonizador en la orofaringe y cloaca, que es una cavidad situada en la parte final del tracto digestivo y abierta al exterior, a la que confluyen también los conductos finales de los aparatos urinario y reproductor del avestruz. De igual manera informaron su presencia en muestras fecales y cloaca de aves silvestres y palomas en áreas urbanas y suburbanas, en los conductos auditivos de bovinos adultos con otitis parasitaria, en mono *Rhesus* sano, en el tracto genital de camellos hembras sanas y gatos sanos (García *et al.*, 2010).

En alimentos y bebidas se ha aislado comúnmente *R. mucilaginosa*. Varios autores han informado su presencia en maní, sidra de manzana, cerezas, frutas frescas, jugo de frutas, queso, salchichas, moluscos comestibles y crustáceos. Se ha aislado en productos lácteos, de los zumos de frutas (García *et al.*, 2010; Krzysciak & Macura, 2010; Wirth & Goldani, 2012). Aunque el consumo de alimentos contaminados con levadura puede no tener un papel directo en la causa de infecciones oportunistas, existe una preocupación creciente de que los alimentos puedan ser una fuente subestimada de patógenos ambientales.

Se ha reportado que *Rhodotorula* es fiablemente resistente al fluconazol y las equinocandinas. Por otro lado, los estudios de susceptibilidad *in vitro* revelaron que *Rhodotorula* es generalmente susceptible a la anfotericina B y la 5- fluorocitosina (García *et al.*, 2010; Krzysciak & Macura, 2010).

De acuerdo con Shivalkar & Prabha, las especies del género *Rhodotorula* pueden sintetizar principalmente los carotenoides torularhodin, torulene y γ -caroteno y una pequeña cantidad de β -caroteno. Debido a esto las levaduras del género *Rhodotorula sp.*, son utilizadas para la producción de pigmentos carotenoides. Los carotenoides son pigmentos naturales responsables de los colores agradables de muchos alimentos y tienen importantes actividades biológicas. Algunos carotenoides son precursores de la vitamina A que tiene efectos beneficiosos sobre la salud humana que incluyen la mejora del sistema inmunológico y la reducción del riesgo de enfermedades degenerativas como cáncer, enfermedades cardiovasculares y cataratas (Shivalkar & Prabha, 2014).

Además, estudios realizados en el 2017 por Maharana y Singh, informaron que *Rhodotorula* es capaz de utilizar varias fuentes de carbono y nitrógeno a 15°C. Esto debido a la producción de la enzima lipasa en condiciones de baja temperatura. Entre sus fuentes de carbono, la galactosa al 1% p/v, fue considerada un buen productor de la enzima. Debido a su capacidad de producir la enzima lipasa a bajas temperatura en diversas condiciones, resulta de gran utilidad para aplicaciones industriales. La principal aplicación

comercial de la lipasa alcalina estable es dentro de la composición de detergentes domésticos y de lavandería. La lipasa estable a iones metálicos se puede utilizar en reacciones de esterificación, dimerización de compuestos químicos, etc. La lipasa tolerante a disolventes orgánicos y activo en frío se puede utilizar en la síntesis de compuestos volátiles y sensibles al calor. Además, la lipasa es compatible con detergentes y agentes oxidantes (peróxido de hidrógeno), por lo que se puede formular como un agente eliminador de lípidos para el lavado a temperatura fría de ropa delicada. Estas propiedades únicas de la lipasa producida por *Rhodotorula sp.*, lo hacen prometedor como biocatalizador para procesos industriales (Maharana & Singh, 2017).

Diversos autores han informado que *Rhodotorula sp* es capaz de sobrevivir en sitios con condiciones desfavorables, como las profundidades del Mar Báltico, el Lago Patagonia a gran altitud, el lago y vegetación de la Antártida y ambientes acuáticos, hipersalinos y de alta temperatura como el Mar Muerto (Israel), el Lago Enriquillo (República Dominicana), el Gran Lago Salado (EE. UU.) y las playas ubicadas en el norte de Brasil (García *et al.*, 2010; Maharana & Singh, 2017). Esto puede deberse a la producción de carotenoides. De acuerdo con la literatura se sabe que la principal acción de los carotenoides en algunos microorganismos consiste en desactivar los radicales libres que se producen durante el metabolismo normal de las células, tales como el oxígeno singlete (1O_2), hidroxilo (OH^\cdot), peróxidos y otros oxidantes mediante un proceso en el que se transfiere energía de altos niveles de excitación a un triplete de la molécula de carotenoide, el cual puede regresar a su estado basal liberando calor (Guamán-Burneo & Carvajal-Barriga, 2009; Maharana & Singh, 2017). Por lo anterior se puede considerar a *Rhodotorula sp.*, como alternativa para biorremediación de agentes tóxicos en suelo y agua.

Estudios realizados en 1984 por Shailubhai *et al.*, revelaron que una cepa de *Rhodotorula sp.*, aislada del suelo, mostró una capacidad versátil para degradar varios hidrocarburos aromáticos y alifáticos, además de ser capaz de degradar lodos de aceite (Shailubhai *et al.*, 1984). Aunando a lo anterior se ha reportado que algunas especies del género *Rhodotorula sp* son potencialmente resistentes a los metales pesados. Estudios realizados por Cho y Kim en el 2003, demostraron que el mecanismo de eliminación de plomo (Pb^{2+}) por *Rhodotorula glutinis* implicaba intercambio iónico y precipitación extracelular (Cho y Kim, 2003). Mientras que en el 2006 Li *et al.*, aislaron cepas de *Rhodotorula sp* en suelos de minas, donde ha logrado sobrevivir en presencia de cadmio (Cd^{2+}), mostrando una alta capacidad de absorber este metal. La capacidad de biosorción está fuertemente influenciada por las condiciones de pH. Por lo que diversos autores han informado que la dependencia del pH en la eliminación de metales pesados podría estar relacionada en gran medida con los diversos grupos funcionales de la superficie de la célula fúngica y las formas iónicas del metal en solución. Los grupos funcionales implicados en la biosorción de metales

pesados son generalmente ácidos débiles, como los grupos carboxílico y fosfato. A valores de pH bajos, la concentración de iones de hidrógeno es alta, de modo que los iones de hidrógeno compiten eficazmente por los sitios de unión. Por otro lado, los grupos funcionales de las células estarían cargados positivamente, lo que inhibiría el acercamiento de los cationes metálicos cargados positivamente. Todos estos factores disminuyen la afinidad de las paredes celulares por los metales, lo que resulta en una capacidad de absorción reducida. Sin embargo, a medida que el pH sube, hay un aumento de grupos funcionales cargados negativamente en las paredes celulares; los grupos funcionales cargados negativamente estarían disponibles para la unión de Cd^{2+} , promoviendo así la eficiencia de la biosorción de Cd^{2+} . En estudios se ha demostrado que se alcanza una meseta cuando los grupos funcionales están completamente disociados. Varios investigadores también han investigado el efecto del pH sobre la biosorción de metales pesados y han encontrado resultados similares. Se ha demostrado que los grupos carboxilo y amida son los sitios de unión funcionales (Li & Yuan, 2006; Li *et al.*, 2008). Además, un estudio realizado recientemente de una especie del género *Rhodotorula sp* por Tkavc *et al.*, mencionó que *R. taiwanensis* que fue capaz de crecer en condiciones de acidez e irradiado por radiación gamma. Por lo que lo han considerado como alternativa para la biorremediación de sitios de desechos radiactivos ácidos, ya que es capaz de crecer a una radiación gamma constante de 66 Gy/h (gray, unidad derivada de la dosis de radiación ionizante por hora) a pH 2.3 y en presencia de altas concentraciones de compuestos de mercurio y cromo. Además de formar biopelículas bajo radiación crónica de alto nivel y pH bajo (Tkavc *et al.*, 2018). Derivado de un trabajo de investigación realizado por Felipe-Collado en el laboratorio de Bioquímica de la Universidad del Papaloapan, campus Tuxtepec, se pudieron aislar hongos del género *Rhodotorula sp.*, en una solución de degradado de PET (Felipe-Collado, 2022). Como anteriormente se había mencionado y de acuerdo con la literatura, se sabe que este microorganismo presenta afinidad por el plástico. Además de ser capaz de crecer en condiciones drásticas de pH y temperatura. Lo cual diversos autores han relacionado con la presencia de grupos funcionales de la superficie de la célula fúngica, que permiten que pueda asimilar agentes tóxicos, entre estos los metales pesados. De ahí que este sea capaz de crecer bajo las condiciones de la degradación alcalina del polietilentereftalato.

HONGOS

▪ *Acremonium sp.*

El género *Acremonium*, anteriormente conocido como *Cephalosporium*, se encuentra constituido por hongos que pertenecen a la división *Ascomycetos*, familia *Hypocreaceae*. Presentan hifas septadas hialinas, que forman como cuerdas entrelazadas y producen principalmente fiálides simples. Los conidióforos son largos y delgados de 5 a 10 μm de largo, y dan origen a microconidias hialinas o pigmentadas, unicelulares y elipsoidales, que son características de este género, con medidas de 1-2 μm de largo por 1 μm de ancho, reunidas en una cabezuela en el extremo distal del conidióforo (Bonifaz, 2012; Fincher *et al.*, 1991; Schinabeck & Ghannoum, 2003). Las especies de *Acremonium* se pueden aislar fácilmente en agar dextrosa Sabouraud modificado (SDA) en un intervalo de temperatura de 25-37 °C, siendo la óptima a 30 °C. Crecen como una colonia suave, cerosa o aterciopelada con variaciones de colores después de 4 o 5 días de incubación. Sus colonias pueden pigmentarse de color blanco-amarillento; en algunas cepas se observan matices de tonos naranja o violeta (Bonifaz, 2012, Das *et al.*, 2010). En la figura 31 a se pueden observar las colonias de la especie *A. moniliforme*, crecida en agar papa y dextrosa (PDA) por un tiempo de 14 días a 25 °C, destacando la presencia de conidióforos simples que surgen lateralmente de las cuerdas de las hifas (Figura 31 b y c); hifas moniliformes (Figura 31 d), fiálide con engrosamiento periclinal en el ápice (Figura 31 e) y conidios (Figura 31 f y g). Las microfotografías se obtuvieron con un microscopio de luz utilizando contraste de fase e interferencia diferencial de Nomarski (Giraldo *et al.*, 2017).

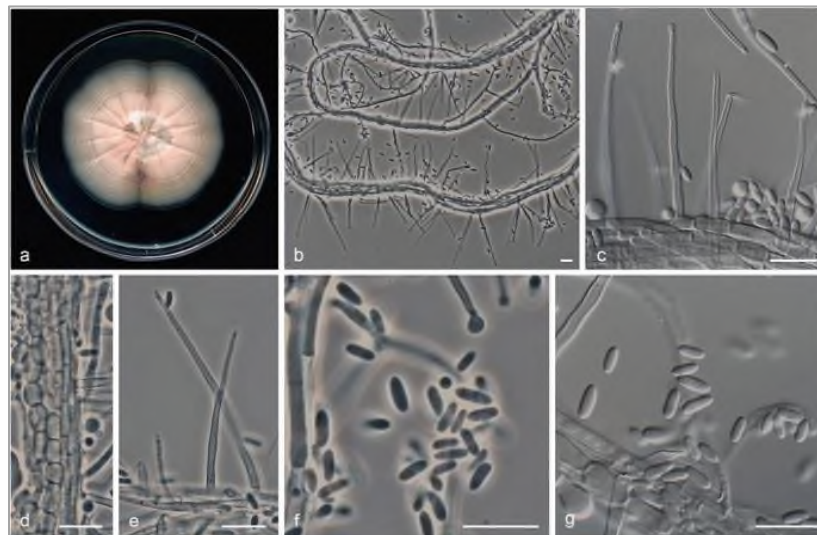


Figura 31. Características microbiológicas de *Acremonium moniliforme* (Giraldo *et al.*, 2017).

En la figura 32 a se distinguen conidios semilunares que no están septados o muestran un solo tabique de una cepa de *Acremonium falciforme* (400x), después de una tinción de azul de algodón de lactofenol (Das *et al.*, 2010). La figura 32 b muestra una imagen de microscopía electrónica de barrido de los conidióforos y los microconidios (aumento x 650-3000 veces) de una cepa de *Acremonium* (Pavlov *et al.*, 2020).

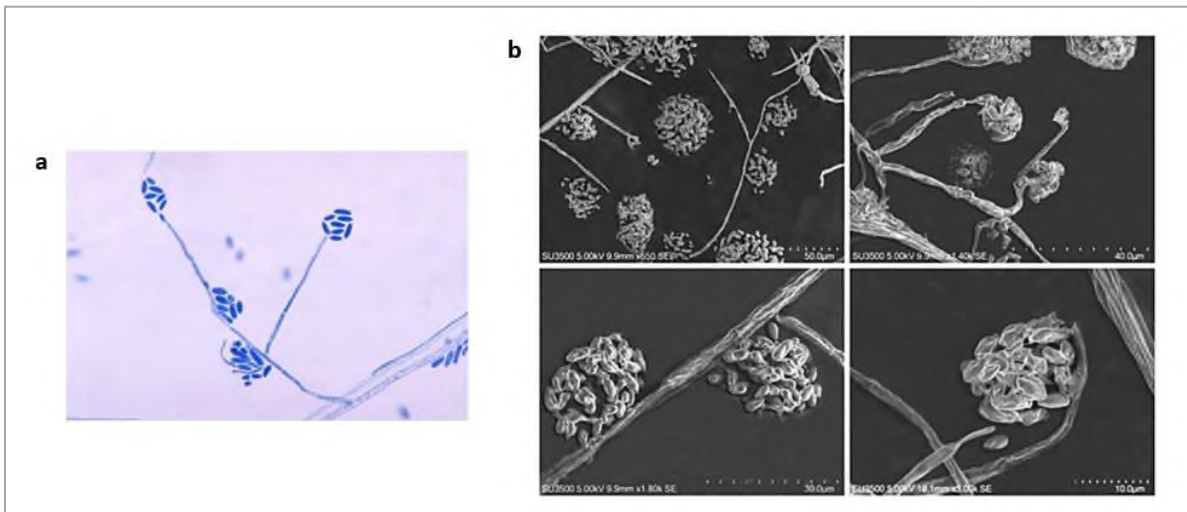


Figura 32. Conidios semilunares no septados, conidióforos y microconidios de *Acremonium* (Das *et al.*, 2010; Pavlov *et al.*, 2020).

El género *Acremonium* contiene más de 100 especies, las cuales son saprofitas, crecen lentamente en ambientes húmedos en forma de mohos y principalmente han sido aislados en suelos, en plantas y animales en descomposición (Schinabeck & Ghannoum, 2003).

Dentro del área de la salud, se ha reportado que muchas especies del género *Acremonium* pueden ser patógenos oportunistas tanto en humanos, como en animales y plantas, debido a que pueden provocar micosis. Esta es causada por los filamentos de los hongos, cuando estos se encuentran en el tejido infectado y se presentan como hialinos o hifas septadas incoloras. Por lo que generalmente las especies de *Acremonium* se consideran como hialohifomicetos, un grupo de hongos que causan infecciones caracterizadas por hialina (cuadro de dificultad respiratoria grave y progresiva que se produce fundamentalmente en recién nacidos prematuros) (Das *et al.*, 2010). Aunque son poco frecuentes las infecciones causadas por *Acremonium*, la infección fúngica subcutánea e invasiva debido a este hongo hialofomicótico, ha llamado la atención de los médicos y microbiólogos, debido a que se ha considerado actualmente como un patógeno potencial emergente en pacientes con y sin factores de riesgo

subyacentes (Das *et al.*, 2010). De acuerdo con estudios realizados desde 1991 por Fincher *et al.*, se sabe que solo siete especies de *Acremonium* causan infecciones en humanos. Donde el 80% son causados por *A. falciforme*, *A. recifei* y *A. kiliense* mientras que el 20% restante son causadas por *A. potronii*, *A. roseogriseum*, *A. estricum* y *A. alabamensis*. También reportaron que las infecciones más frecuentes debidas a estas especies son del tipo micetomas, que son una enfermedad infecciosa crónica y progresivamente destructiva que afecta a la piel, el tejido subcutáneo y el hueso, y ocurrían con mayor frecuencia en pacientes inmunosuprimidos que presentaban alguna lesión cutánea. Además, informaron que las manifestaciones clínicas de hialohifomicosis causadas por *Acremonium* pueden incluir artritis, osteomielitis, peritonitis, endocarditis, neumonía, cerebritis e infecciones oculares, subcutáneas, y dermatofitosis como eumicetoma, onicomycosis y hialohifomicosis (Fincher *et al.*, 1991). En 1997 Guarro *et al.*, publicó que, desde el punto de vista médico, *A. kiliense*, es la especie más importante, ya que se caracteriza por formar clamidosporas. De acuerdo con sus estudios, su grupo también describió que las infecciones en animales, incluyen lesiones cutáneas en búfalos indios y caimanes; queratoconjuntivitis, micetomas e infecciones sistémicas en perros; y dos casos de abortos en bovinos (Guarro *et al.*, 1997). En un estudio bibliográfico realizado por Das *et al.*, en el 2010, informó que la mayoría de las infecciones diseminadas ocurren en pacientes inmunosuprimidos. Mientras que en pacientes inmunodeficientes con neumonía, artritis, osteomielitis, endocarditis, meningitis, peritonitis y sepsis se han encontrado especies de *Acremonium*. Entre los factores de infección se encuentran los siguientes: 1) ser receptor de un órgano transplantado, b) diabetes, c) micetoma y d) leucemia. Estos investigadores afirmaron que la endocarditis, la cerebritis, y la meningitis son causadas principalmente por *A. Strictum* y *A. alabamensis*. De la misma forma informaron la existencia de infección pulmonar crónica (ECG) por *A. kiliense* en un niño que tenía peritonitis. Además, se ha reportado infección en huesos causada por *Acremonium*, en pacientes que son receptores de trasplante de medula ósea (Das *et al.*, 2010).

Mientras que en ese mismo año Falconi y su grupo reportaron que en plantas como *Dysdercus peruvianus*, el hongo es capaz de producir muerte con hasta un 80% de letalidad (Falconi *et al.*, 2010). Sin embargo, se ha reportado también que algunas especies de *Acremonium* pueden antagonizar los efectos que causan otros hongos en algunas especies de planta. Por ejemplo, en el año 2005, Wicklow *et al.*, presentó un estudio sobre el endófito de maíz *Acremonium zeae*, que es un antagonista de la pudrición del grano y de los hongos productores de micotoxinas *Aspergillus flavus* y *Fusarium verticillioides*. En sus pruebas de cultivo observaron que interfiere con la infección por *A. flavus* y la contaminación por aflatoxinas y fumonisinas en los granos de maíz antes de la cosecha. En sus estudios químicos realizaron extractos orgánicos de fermentaciones de granos de maíz de *Acremonium zeae*, mostrando actividad antifúngica significativa

contra *A. flavus* y *F. verticillioides*. Además, reportaron que los metabolitos que explican esta actividad eran dos antibióticos que recientemente habían sido reportados: pirrocidinas A y B (Wicklow, 2005).

La importancia de conocer como este microorganismo puede contrarrestar la acción de las micotoxinas, radica en que los metabolitos que produce pueden ser utilizados para contrarrestar la patogenicidad generada en humanos y animales por otras especies de hongos y bacterias. Además de ser una alternativa para el control biológico en cultivos, como en el caso del maíz.

Dentro de los estudios realizados en 1997 por el grupo de Guarro se realizaron pruebas de susceptibilidad en un número relativamente grande de aislamientos de *Acremonium*, con los medicamentos antimicóticos más comunes (ketoconazol, anfotericina B, 5-fluorocitosina, miconazol y fluconazol) para poder determinar un adecuado tratamiento contra las infecciones causadas por varias especies de este género. El estudio consistió en determinar la concentración inhibitoria mínima (MIC) y la concentración mínima de fungicida (MFC) de diferentes antifúngicos, contra 33 cepas de *Acremonium*, donde observaron que la anfotericina B fue el fármaco más eficaz seguido de itraconazol, miconazol y ketoconazol. De manera general, concluyeron que las cepas de *Acremonium*, presentaron poca susceptibilidad contra los antifúngicos probados (Guarro *et al.*, 1997). Sin embargo, otros estudios han reportado en sus resultados que el fluconazol, la 5-fluorocitosina e itraconazol han sido ineficaces en la mayoría de los casos, entre diferentes cepas de *Acremonium*, excepto en el caso de onicomicosis tratada con azoles (Das *et al.*, 2010). En el año 2009 Arredondo-García y colaboradores realizaron un estudio sobre la susceptibilidad de aislados de levaduras y mohos a anfotericina B y antifúngicos triazólicos. Con base en sus resultados, ellos reportaron que las cepas del género *Acremonium* presentaron resistencia a fluconazol, un fármaco con una MIC $\leq 1 \mu\text{g/mL}$ para hongos filamentosos. Mientras que para la anfotericina B, a pesar de su eficacia con otros hongos, ha resultado poco eficaz (Das *et al.*, 2010). Mientras que, en estudios realizados *in vitro*, el voriconazol resultó activo contra levaduras y mohos que comúnmente causan micosis severas en México (Arredondo-García *et al.*, 2009). Sin embargo, la variación en los valores de MIC, pudo deberse a las diferentes metodologías utilizadas para determinar las pruebas de susceptibilidad antifúngica. Aunque la eficacia clínica de los fármacos no ha sido muy alentadora, es importante considerar que los microorganismos son capaces de generar mecanismos de defensa y en poco tiempo volverse resistentes a los fármacos utilizados actualmente contra las infecciones de este hongo. Muchos de estos mecanismos se han detallado en el marco teórico de este escrito.

Especies de este género han sido utilizadas para la producción de la Cefalosporina C, uno de sus principales metabolitos secundarios. Este metabolito pertenece a la familia de los antibióticos β -lactámicos, los cuales presentan una alta eficacia para el tratamiento contra bacterias Gram positivas y Gram negativas gracias

a su amplio espectro de acción. La primera cefalosporina fue aislada de cepas del hongo *Cephalosporium acremonium* de una alcantarilla en Cerdeña en 1948 por el científico italiano Giuseppe Brotzu. Él notó que estas cepas producían una sustancia eficaz contra *Salmonella typhi*. Del líquido de cultivo del hongo, obtuvo tres antibióticos diferentes, que denominó como P (contra gram positivos), N (contra gram negativos y positivos) y C (parecido al N, pero de menor potencia). En 1953 un grupo de investigadores aislaron en la Escuela de Patología "Sir William Dunn" de la Universidad de Oxford la Cefalosporina C y una molécula más eficaz que fue comercializada por la compañía Eli Lilly en la década de los sesenta (Demain & Zhang, 1998; Schinabeck & Ghannoum, 2003). Además, por su composición la Cefalosporina C es menos tóxica en comparación con otros antibióticos. En 1956 Miller *et al.*, reportaron que la Cefalosporina C es producida principalmente por *Acremonium chrysogenum* (anteriormente conocido como *Cephalosporium acremonium*) (Demain & Zhang, 1998, Miller *et al.*, 1956). Además de la producción de antibióticos β -lactámicos, las cepas de *Acremonium* representan una gran fuente de metabolitos secundarios a nivel industrial con actividad biológica, en este grupo se encuentran las cefalosporinas inmunosupresoras, indoliterpenoides, inhibidores de fenoles, penicilina N y las acremonidinas A-E (1-5) (Demain & Zhang, 1998; Nash & Huber, 1971; Skatrud *et al.*, 1987). En la figura 33 se observa la estructura de cada una de estas moléculas, las cuales son biosintéticamente derivadas de monoterpenos y grupos poliacéticos. Las acremonidinas A y B muestran una actividad moderada contra bacterias grampositivas, incluidos los estafilococos resistentes a la meticilina y los enterococos resistentes a la vancomicina (He *et al.*, 2003).

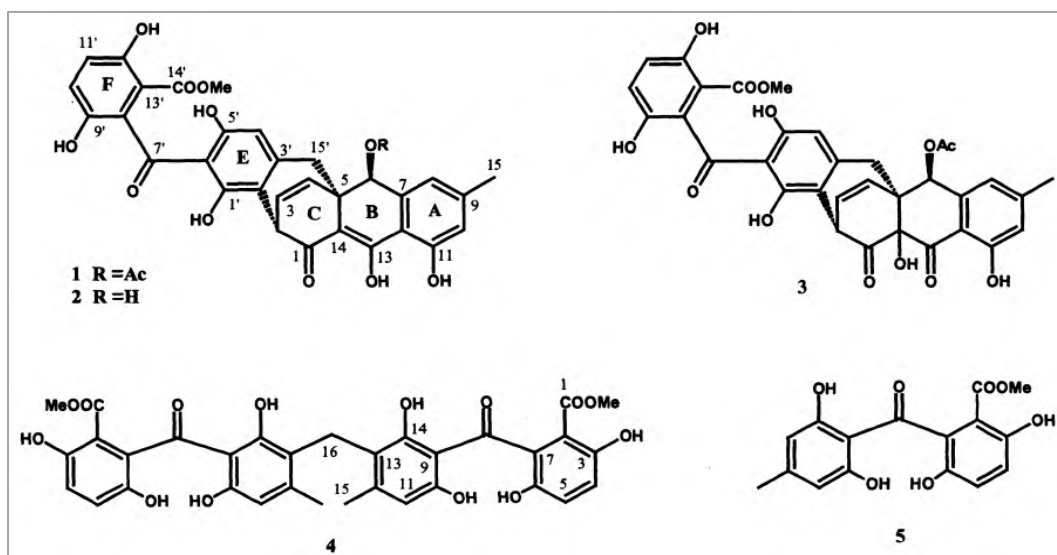


Figura 33. Estructuras de acremonidinas A-E (1-5) (He *et al.*, 2003).

En el año 2009 Isaka *et al.*, aislaron de una cepa de *Acremonium* acremonidinas (A y C) y acremoxantonas (A y B, antibióticos policétido), que exhibieron propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiplasmodiales, y actividades citotóxicas (evaluado en *S. aureus*, *B. cereus*, *C. albicans*, *P. falciparum*). En la figura 34 a se muestra la estructura química de la acremoxantona A y en la figura 34 b la estructura química de la acremoxantona B.

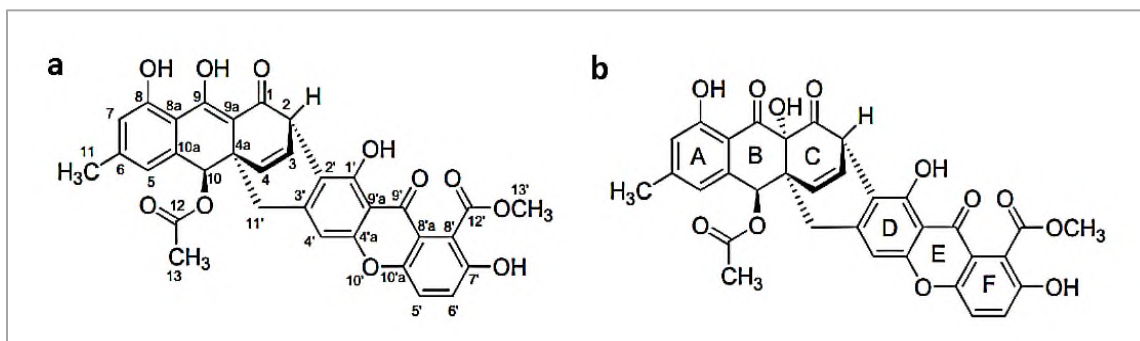


Figura 34. Estructura química de la acremoxantonas A y B (Isaka *et al.*, 2009).

Estudios realizados en el 2011 por Kulshrestha y Kumari, evaluaron la capacidad de una cepa de *Acremonium* para degradar clorpirifos, un insecticida organofosforado, que es ampliamente aplicado en la agricultura; en veterinaria es utilizado contra plagas domésticas; y en termitas subterráneas es utilizado como control. Pero debido a su lenta tasa de degradación en el suelo, puede persistir durante períodos prolongados en el suelo como una amenaza significativa al medio ambiente y la salud pública. En sus resultados observaron el crecimiento de la cepa de *Acremonium* en presencia de clorpirifos al ser usado como fuente de carbono y nitrógeno. Mencionaron que la cepa se utilizará para desarrollar una estrategia de biorremediación para suelos contaminados con clorpirifos (Kulshrestha & Kumari, 2011).

De acuerdo con estos estudios *Acremonium* parece ser una fuente viable para la obtención de nuevos fármacos antimicrobianos y antifúngicos, que muestran mejor actividad con respecto a los existentes, a los cuales diversos microorganismos ya son resistentes. Como es bien sabido en ambientes contaminados se pueden encontrar diversidad de agentes tóxicos, los cuales influyen en el desarrollo de mecanismos de acción por parte de los microorganismos, lo cuales los ayudan a resistir las contingencias del medio ambiente. Ello provoca que sean considerados para utilizarse en diversos procesos de biorremediación. Un ejemplo, relacionado con lo anterior es el estudio realizado en 2014 por Xiao-kui *et al.*, donde ellos evaluaron como algunos iones de metales pesados afectan la eliminación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) por hongos resistentes a metales pesados. Para ello utilizaron una cepa de hongo *Acremonium*, que es resistente a metales pesados. Aunado a lo anterior ellos observaron que *Acremonium*

crecido en medio de cultivo mineral, presentó capacidad de eliminación para naftaleno, fluoreno, fenantreno, antraceno y fluoranteno solos (98.6, 99.3, 89.9, 60.4 y 70 %, respectivamente) o en forma de mezcla (96.9, 71.8, 67.0, 85.0 y 87.9 %, respectivamente). Además, en forma de mezcla, el hongo demostró una alta resistencia a los metales pesados individuales (Mn^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Al^{3+} y Pb^{2+}). La eliminación de los HAPs individuales existentes en una mezcla se vio afectada de manera directa por los metales pesados probados por separado. De esta forma, el Cu^{2+} mejoró el proceso de partición del antraceno en micelios vivos o muertos, y la contribución de la biosorción por esta cepa, pero impuso una pequeña influencia negativa en la contribución de la biodegradación a la eliminación total de antraceno individualmente en un cultivo. Mientras que Mn^{2+} tuvo un efecto inhibitor sobre el proceso de partición del antraceno en micelios vivos o muertos, y disminuyó las contribuciones tanto de la biosorción como de la biodegradación a la eliminación total del antraceno (Xiao-kui, *et al.* 2014). Recientemente en estudios realizados por Imo y Chidiebere, se demostró la corrosión influenciada por hongos del aluminio (Al) en presencia de *Acremonium kiliense* utilizando técnicas gravimétricas y de polarización potenciodinámica. Observaron que la influencia depende de la capacidad de los hongos para crecer en la superficie del metal y producir metabolitos que estimulan cambios en la resistencia a la polarización y destruyen la superficie del metal. Dentro de sus resultados observaron que después de 60 días de exposición el crecimiento y la fijación de los hongos sobre el Al, influyeron en su tasa de corrosión durante el período, como lo demostró el aumento de la tasa de corrosión y la pérdida de peso. Por ejemplo, la tasa de corrosión acumulada del Al cuando se expuso a *A. kiliense* fue mayor (5.58 ± 0.55 mpy, milésimas de pulgada de penetración anual) que la observada cuando no estuvo expuesto a otros hongos (2.71 ± 0.01 mpy). Los análisis gravimétricos de tasa y pérdida de peso también mostraron que fueron proporcionales al tiempo de exposición. Sus estudios revelaron además que la densidad de corriente de corrosión (I_{corr}) del aluminio aumentó en presencia de los hongos ($183.7 \mu A/cm^2$) en comparación con el valor que obtuvieron en ausencia de los hongos ($153.5 \mu A/cm^2$), lo que indica la evidencia de las actividades de corrosión (Imo y Chidiebere, 2019). Lo anterior indicaría que los hongos al estar en consorcio con otros hongos tienen mayor potencial para degradar agentes tóxicos como los metales.

Estudios realizados en el 2022, por Felipe-Collado de una cepa aislada en una solución de degradado de PET, en la Universidad del Papaloapan observo que *Acremonium* solo puede crecer en forma de consorcio microbiano, junto con otros hongos en un medio enriquecido con degradado alcalino de polietilentereftalato a diversos valores de pH. Sin embargo, puede ser aislado en un medio nutritivo artificial pero no soporta las diversas concentraciones de degradado de PET de forma individual (Felipe,

2022). Esto indica que ha creado una relación de interdependencia metabólica con otros hongos con los cuales ha podido resistir el medio en el cual fueron aislados.

- ***Aspergillus flavus***

Es una especie de hongo saprofita que pertenece al género *Aspergillus* miembro de la sección *Flavi*. Presenta micelio tipo macrosifonado (2-4 μm), septado y hialino, microconidios redondos de 2-3.5 μm , equinulados, su cabeza aspergilar mide 40-100 μm ; está compuesta por conidióforos largos (80-100 μm), vesícula redonda (20 μm) de donde nacen en prácticamente un ángulo de 360° dos series de fiálides o esterigmas (biserial) (Bonifaz, 2012). Fue descrito por Link en 1809 y es conocido como una especie asexual que solo produce esporas asexuales, conidios y los cuerpos fructíferos asexuales que hibernan en formas conocidas como esclerocios, que son estructuras que le permite sobrevivir a condiciones desfavorables. Los esclerocios (que pueden contener las ascosporas sexuales del hongo) sobreviven en el suelo en condiciones ambientales severas y producen conidios, lo que lleva a un aumento de la población en condiciones climáticas cálidas y secas. Los esclerocios germinan una vez que las condiciones ambientales se vuelven propicias para el crecimiento para formar hifas y conidióforos (Amaike & Keller, 2011; Amare & Keller, 2014; Cary *et al.*, 2018; Frisvad *et al.*, 2019). En la figura 35 a se observa el crecimiento de *A. flavus* en un medio de cultivo de Agar Czapeck's a 37°C y en la figura 35 b se puede observar su cabeza conidial a través de un microscopio óptico (40x) después de una tinción con azul de algodón (Hedayati *et al.*, 2007).

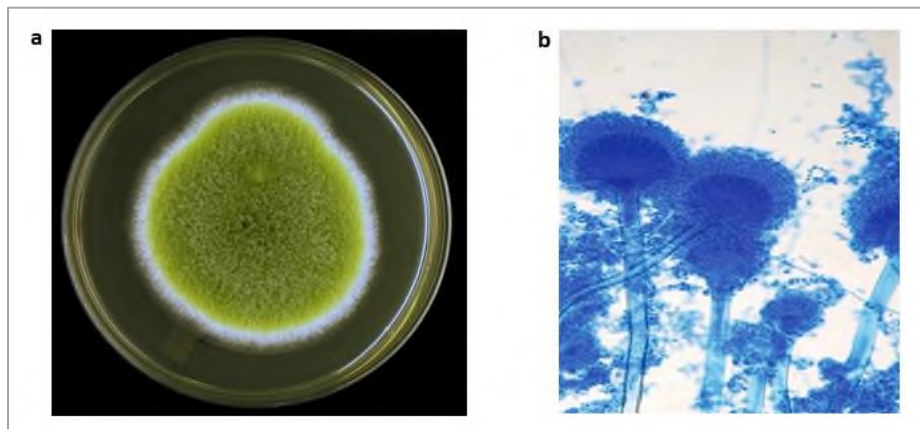


Figura 35. Característica macroscópica y microscópica de *A. flavus* (Hedayati *et al.*, 2007).

En la figura 36 se observa la morfología de *A. flavus* a través de un microscopio de barrido (SEM, 5000x). Se pueden observar claramente sus conidias de tipo fialofora, su fiálide y su conidióforo.

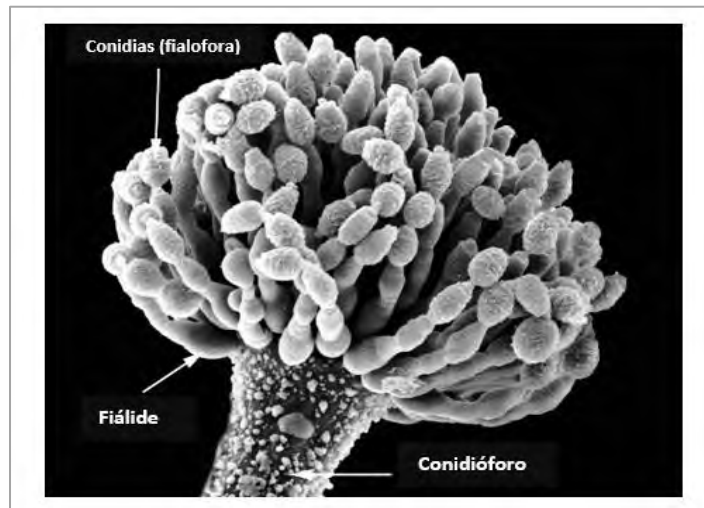


Figura 36. Morfología de *A. flavus* a través de SEM (Barron, 2013).

Este microorganismo está presente en el suelo en forma de conidios o esclerocios y en tejidos vegetales como micelios (Amaike & Keller, 2011; Amare & Keller, 2014; Cary *et al.*, 2018; Frisvad *et al.*, 2019). Se ha aislado en una amplia gama de zonas climáticas, encontrándose con mayor frecuencia entre las latitudes 16° y 35°, en zonas de clima cálido y no es común por encima de latitudes de 45° (Amaike & Keller, 2011; Frisvad *et al.*, 2019). Estudios realizados en el 2011 por Amaike y Keller, informaron que *Aspergillus flavus* es un patógeno oportunista en humanos y animales. En ambos, el consumo de alimentos contaminados por la micotoxina aflatoxina causa aflatoxicosis y/o cáncer de hígado. La aflatoxina es un potente metabolito secundario carcinogénico y mutagénico derivado de policétidos, que son metabolitos secundarios de bacterias, hongos, plantas y animales. La primera descripción de la aflatoxina surgió de las investigaciones de la enfermedad del Pavo X en Inglaterra en 1962, donde miles de aves de corral murieron al comer maní contaminado con aflatoxina. De acuerdo con estudios considerados en los estudios de Amaike y Keller, las aflatoxinas tienen una amplia gama de impactos en la salud según la dosis ingerida. La aflatoxicosis aguda, que surge de la ingesta de aflatoxinas en dosis altas durante un período corto, a menudo resulta en brotes de intoxicación por aflatoxina que matan a decenas de personas. Los ejemplos por excelencia reportados en los estudios de Amaike y Keller, son los brotes recurrentes observados en Kenia de África oriental, que experimentó su peor brote en 2004 con 317 casos y 125 muertes reportadas. La aflatoxicosis crónica, que surge del consumo de aflatoxinas en dosis bajas durante un período prolongado, puede provocar supresión inmunológica, retraso del crecimiento y cáncer de hígado. A diferencia de las aflatoxicosis (efectos tóxicos en las células), se encuentran los cánceres que surgen de la exposición

prolongada a la aflatoxina B1. Esta micotoxina es un potente hepatocarcinógeno e induce tumores principalmente en el hígado, pero también en los riñones, pulmones y colon en humanos y animales. Se sabe que el cáncer de hígado inducido por aflatoxinas surge de una mutación en el gen supresor de tumores, p53, en el hígado (Amaike & Keller, 2011; Amare & Keller, 2014). De acuerdo con reportes el carcinoma hepatocelular (CHC), un cáncer de hígado primario está asociado con aflatoxina. En 2010 Liu y Wu, demostraron que entre el 4,6% y el 28,2% (aproximadamente de 25.000 a 155.000 casos) de todos los casos de CHC en el mundo están asociados con la exposición a aflatoxinas y se producen principalmente en países en desarrollo donde las personas también padecen infección crónica por el virus de la hepatitis B (VHB). El crecimiento invasivo de este hongo causa infecciones como aspergilosis, que a menudo es fatal en humanos inmunodeprimidos. Existen clasificaciones clínicas de la aspergilosis: alérgica (asma extrínseca, alveolitis alérgica extrínseca y aspergilosis broncopulmonar alérgica), colonizadora saprofítica (pulmonar, extrapulmonar) e invasiva (pulmonar y extrapulmonar). La mayoría de las infecciones humanas surgen por la inhalación de las esporas del hongo. Mientras que las infecciones nosocomiales pueden ocurrir durante la cirugía, como ocurre con los pacientes trasplantados (Amaike & Keller, 2011). En el 2014 Amare y Keller, informaron que, en el tejido del huésped, incluido el de los seres humanos, los animales y las plantas, los conidios germinan y crecen como micelios que pueden convertirse en conidióforos o esclerocios según las señales ambientales y nutricionales (Amare & Keller, 2014). De acuerdo con diversos autores se ha reportado que *A. flavus* es considerado el segundo patógeno principal que causa aspergilosis invasiva y no invasiva, después de *A. fumigatus* en humanos. También se ha informado que *A. flavus* es una de las principales causas de queratitis micótica, una infección fúngica de la córnea, infecciones cutáneas y sinusitis. Animales como conejos, pollos domésticos, gansos y pavos resultan bastante susceptibles a las enfermedades de aspergilosis causadas por *A. flavus* (Amaike & Keller, 2011; Frisvad *et al.*, 2019; Plabutong *et al.*, 2020). Amaike y Keller, informaron que las enfermedades de los insectos, en particular la de las abejas, también son causadas por *A. flavus*. La cría de piedra, es una enfermedad en la que están presentes larvas muertas y momificadas, debido a la afectación que produce *A. flavus* en las células de la cría. Las células de las crías son los hemocitos (células de la sangre (hemolinfa) de los invertebrados como los insectos, su función consiste en expulsar cuerpos extraños y en la herida cicatrizar por aglutinación. Han sido clasificadas en siete a diez tipos mayores, aunque pueden incluir formas de transición), de las que existen diferentes tipos, y que protegen a las larvas de la invasión de bacterias y parásitos utilizando varios mecanismos: la fagocitosis, la encapsulación y la formación de nódulos. (Amaike & Keller, 2011). En el 2011 por Amaike & Keller, informaron que el hongo causa enfermedades en varios cultivos agrícolas importantes, como el maíz (pudrición de la mazorca), el maní y en la semilla

de algodón (moho amarillo respectivamente), antes y después de la cosecha (Amaike & Keller, 2011). De acuerdo con estudios realizados en el 2018 por Yao *et al.*, informaron que la aflatoxina B1 se ha detectado ampliamente en la alimentación diaria a escala mundial, incluida su presencia en el arroz y los productos de arroz en Pakistán (2016), caña de azúcar en Egipto (2016), salchichas en Croacia (2017), leche en Europa (2017), aceite vegetal (2011) y en las medicinas tradicionales de China (2016), e inclusive en la leche materna humana en Turquía (2017) (Yao *et al.*, 2018). Recientemente estudios realizados por Frisvad *et al.*, informaron que *A. flavus* es conocido principalmente porque infecta y contamina los cultivos de semillas antes y después de la cosecha con su metabolito secundario aflatoxina, de carácter cancerígeno. Especialmente afecta cultivos que contienen aceite, como: maíz, maní y semilla de algodón (Frisvad *et al.*, 2019). Estudios reportados desde 1978 por Bennett *et al.*, informó que la producción de aflatoxina en *A. flavus* puede ser inhibida en gran parte, cuando el hongo recibe una irradiación constante de luz blanca (Bennett *et al.*, 1978). Ehrlich *et al.*, informaron en 2014 que *A. flavus* también produce otras micotoxinas como el aflatrem y el ácido ciclopiazónico, en las mismas condiciones en las que produce aflatoxina. El ácido ciclopiazónico es un inhibidor específico de la ATPasa dependiente de calcio del retículo sarcoplásmico y endoplásmico, una enzima necesaria para la contracción y relajación muscular adecuadas (Ehrlich, 2014).

Diversos autores han reportado que *A. flavus* presenta resistencia *in vitro* a la anfotericina B, la cual es administrada a pacientes enfermos con aspergilosis invasiva (Hadrich *et al.*, 2012; Plabutong *et al.*, 2020; Seo *et al.*, 1999). Desde 1999, el grupo de Seo, reportó que la alteración de la composición de la pared celular conduce a la resistencia a la anfotericina B en *A. flavus* (Seo *et al.*, 1999). Estudios realizados por Koss *et al.*, en el 2002, reportaron que la aspergilosis invasiva es la segunda infección micótica oportunista más común en pacientes inmunodeprimidos (Koss *et al.*, 2002). En la figura 36 se muestra una infección cutánea primaria causada por *A. flavus* en un paciente con leucemia mielógena aguda. Donde la figura 37 a muestra la placa eritematosa con una gran escara necrótica central localizada proximal al catéter intravenoso. Mientras que en la figura 37 b expone las hifas características de ramificación dicotómica de Aspergilosis (x100) (Koss *et al.*, 2002).

Se ha reportado una nueva clase de fármaco antimicótico, la caspofungina, para el tratamiento de la aspergilosis invasiva en pacientes que son refractarios o intolerantes a otros tratamientos. En enero de 2001 fue aprobada por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). La caspofungina, un lipopéptido semisintético sintetizado a partir de un producto de fermentación del hongo *Glarea lozoyensis*, pertenece a una nueva clase de agentes antifúngicos llamados equinocandinas. Estos fármacos inhiben la síntesis de (1,3)- β -D-glucano, un componente integral de la pared celular de los hongos.

Además, la caspofungina genera menos efectos secundarios graves en comparación con la anfotericina B (Koss *et al.*, 2002). También se ha reportado la resistencia de *A. flavus* a la fleomicina un antibiótico metalo-glucopéptido de la familia de las bleomicinas (He *et al.*, 2007).

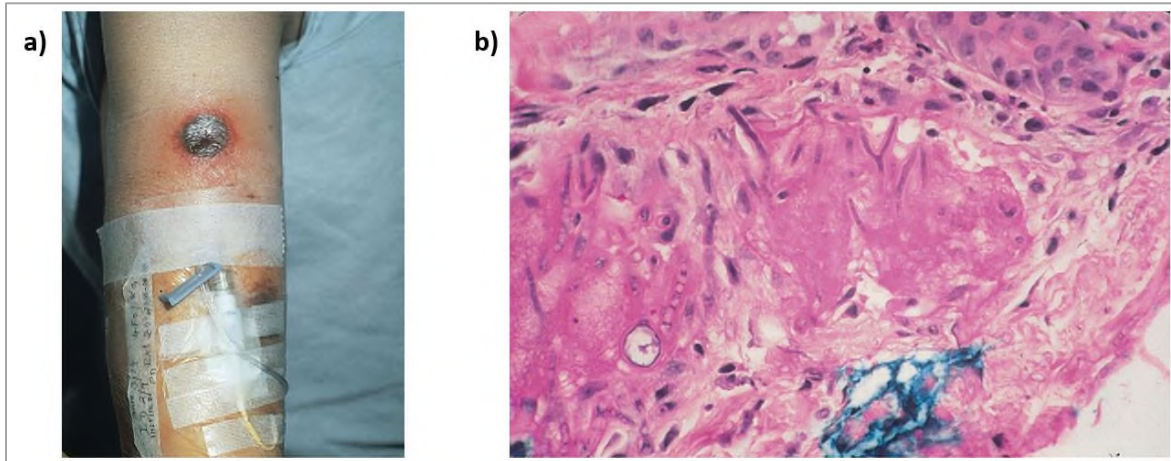


Figura 37. Infección de un paciente con leucemia mielógena aguda y aspergilosis cutánea primaria (Koss *et al.*, 2002).

Al ser un saprófito en suelos de todo el mundo, sobrevive en este ambiente obteniendo nutrientes de materia orgánica muerta o en descomposición (Cary *et al.*, 2018). Sin embargo, varios estudios han reportado que la glutamina es la fuente de nitrógeno óptima para la producción de aflatoxinas en *A. flavus* cultivado en medio Czapek Dox. Además, la glutamina a 4 mM es el umbral para una alta producción de aflatoxina B1. El esfuerzo por dilucidar el proceso de biosíntesis de aflatoxinas en *Aspergillus flavus*, ha revelado que más de 30 genes están implicados en la formación de las aflatoxinas. En la década de 1990 Cotty y colaboradores descubrieron que un aislado en particular, de *A. flavus* no aflatoxigénico (AF36), fue aislado de semillas de algodón en Arizona. Posteriormente, se descubrió que este aislado no podía producir aflatoxina debido a una mutación puntual en el gen de la policétido sintasa que es necesaria para la biosíntesis de aflatoxinas (Ehrlich, 2014). En el 2014 Ehrlich informó que algunas cepas de *Aspergillus flavus*, en particular las no aflatoxigenicas, son buenas competidoras para la reducción del contenido de aflatoxinas. Por lo que actualmente es el método de biocontrol más utilizado para reducir la contaminación por aflatoxinas de cultivos de cereales en maíz y semilla de algodón, donde la contaminación por aflatoxinas es un problema persistente para la salud humana y animal (Ehrlich, 2014). Sin embargo, recientemente en el 2019 Frisvad *et al.*, reportaron que también estas cepas pueden producir otros metabolitos secundarios potencialmente tóxicos (Frisvad *et al.*, 2019). Estudios realizados 2007 por He *et al.*, y en el 2017 por Wang *et al.*, reportaron que los genes que codifican la vía biosintética

se agrupan en una región de 70 kb del cromosoma. Informaron, además, que se ha encontrado que el agua, la temperatura, el pH, el estrés exógeno, los nutrientes y otros factores fisicoquímicos tienen una influencia notable en la biosíntesis de aflatoxinas (He *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2017). Aunque aún no está claro cómo estos factores influyen en la producción de AF y cómo se controlan los elementos reguladores como el factor de transcripción de la vía de las aflatoxinas.

En 2011 Joshi *et al.*, realizaron un estudio de la biorremediación de metales pesados en medios líquidos utilizando hongos aislados de fuentes contaminadas. En sus estudios reportaron setenta y seis aislados fúngicos tolerantes a metales pesados como Pb, Cd, Cr y Ni, que fueron aislados de aguas residuales, lodos y efluentes industriales que contenían metales pesados, entre estos *A. flavus*. Donde la mayoría de los hongos aislados fueron capaces de tolerar una concentración de Pb, Cd, Cr y Ni de hasta 400 ppm (Joshi *et al.*, 2011). En 2012 estudios realizados por Thippeswamy *et al.*, reportaron el potencial de bioacumulación de *A. flavus* en la eliminación de metales pesados en efluentes de fábricas de papel. El microorganismo mostró tolerancia y acumulación de los metales tóxicos Ni, Zn, Cd, Pb, Cr y Cu en medio sintético y en efluentes de fábricas de papel. De acuerdo con sus resultados *A. flavus* fue capaz de tolerar y crecer en 1000 mg/L de Pb, Zn y 100 mg/L de Cu y Ni, respectivamente para cada metal (Thippeswamy *et al.*, 2012).

Estudios realizados en el 2022 por Vázquez-Velasco de una cepa de *A. flavus* aislado en el afluente Arroyo Moctezuma, Tuxtepec, Oaxaca, presentaron resistencia a los metales pesados Pb, Cr, Cd y Hg. Se observó que el microorganismo creció en presencia de Pb a concentraciones de 0.32 a 195 mM, Cr de 0.32 a 1.95 mM, Cd 0.32 a 0.63 mM y en presencia de Hg solo creció a la concentración de 0.32 mM. Estos resultados indican que la cepa aislada por Vázquez-Velasco toleró concentraciones mayores a las reportadas por los autores anteriores, debido, posiblemente, a que el sitio del cual fueron aislados estaba muy contaminado y ello propició, posiblemente, el desarrollo de mecanismos de defensa contra estos metales pesados (Vázquez-Velasco, 2022). De igual forma esta cepa creció a una concentración de mercurio, metal en el que los autores anteriores no encontraron crecimiento. Aunque aún se desconoce los mecanismos de resistencia como anteriormente se ha mencionado, existen varios estudios donde demuestran que son capaces de crecer bajo estas condiciones.

▪ ***Aspergillus niger***

Es una especie de hongo ascomiceto filamentoso, pertenece al género *Aspergillus* y es miembro de la sección *Nigri* (Díaz *et al.*, 2020). Es un hongo micelial ambiental, formado por hifas hialinas tabicadas. Posee el micelio nutritivo macrosifonado (2-4 μm), septado y hialino; el micelio reproductivo es macrosifonado

(4-8 μm), pocas veces septado y hialino; posee microconidios redondos o elípticos, de 2-5 μm de diámetro; su cabeza aspergilar mide 100-200 μm y está compuesta por conidióforos largos, liso o ligeramente granular (100-250 μm) que suelen ser hialinos o pardos; presenta vesícula redonda (50-100 μm), de donde nacen alrededor, en un ángulo de casi 360°, dos series de fiálides o esterigmas (biseriado). La primera es de gran tamaño, mientras la segunda tiende a ser pequeña (Bonifaz, 2012). Presentan un tallo delgado con una cabeza conidial negra redonda formada por esporas de forma característica de color marrón a negro, que brotan del cuerpo del organismo como parte de la reproducción asexual. *Aspergillus niger* se considera un saprófito asexual cosmopolita, que se encuentra en casi todos los entornos aeróbicos (Lima *et al.* 2019; Schuster *et al.*, 2002). En medios de cultivo al inicio (1 a 2 días) forma una colonia blanca-amarillenta y luego se convierte a negra, de forma y aspecto polvoso y no presenta pigmentos (Bonifaz, 2012). En la figura 38 a se muestra el cultivo de una cepa de *A. niger* cultivado en agar nutritivo y el a figura 38 b su morfología vista a través de un microscopio óptico (100x), donde se observa su conidióforo con esporas asexuales (Svanström, 2013).

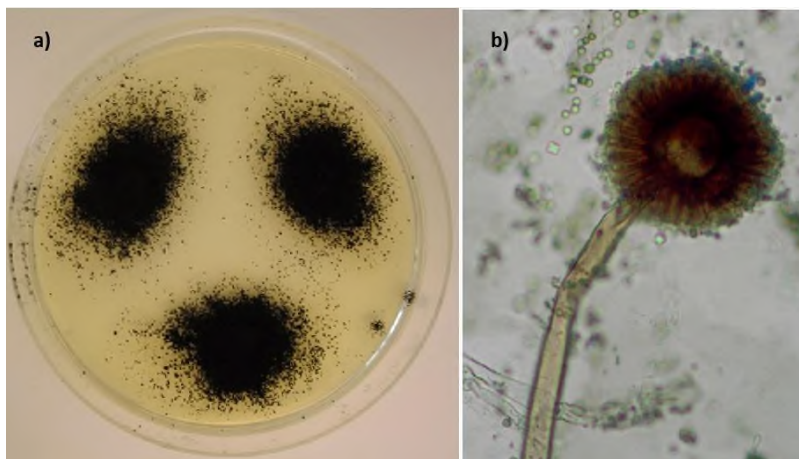


Figura 38. Características macroscópicas y microscópicas de *A. niger* (Svanström, 2013).

En figura 39 se muestra las características de *A. niger* a través de un microscopio electrónico de barrido (SEM), en la a y f se observa *A. niger*, b sus conidióforos, c sus conidios, d sus hifas reproductivas, e se muestra su fase de moho, g se puede observar sus cadenas de conidios, h se observa que exhibe diversas especies de moho, i se muestra una vista pectoral y finalmente en la j se muestra una vista hifal del hongo (Saeed *et al.*, 2018).

El microorganismo es termotolerante, pudiendo prosperar en condiciones de congelación y clima muy caluroso, y multiplicarse dentro de un rango de temperatura de entre 6 y 47 °C, con una temperatura

óptima relativamente alta de 35 a 37 ° C. El pH óptimo para el crecimiento de este hongo es 6, pero también es capaz de tolerar un amplio rango de pH (de 1.5 a 9.8). La actividad hídrica y la humedad relativa más favorables para observar el crecimiento de esta especie es 0.97 y 96-98%, respectivamente. Además se ha informado que las esporas negras de *A. niger* aparentemente brindan protección contra la luz solar y la irradiación UV, teniendo una ventaja competitiva sobre otros microorganismos en sus hábitats (Lima *et al.*, 2019; Schuster *et al.*, 2002).

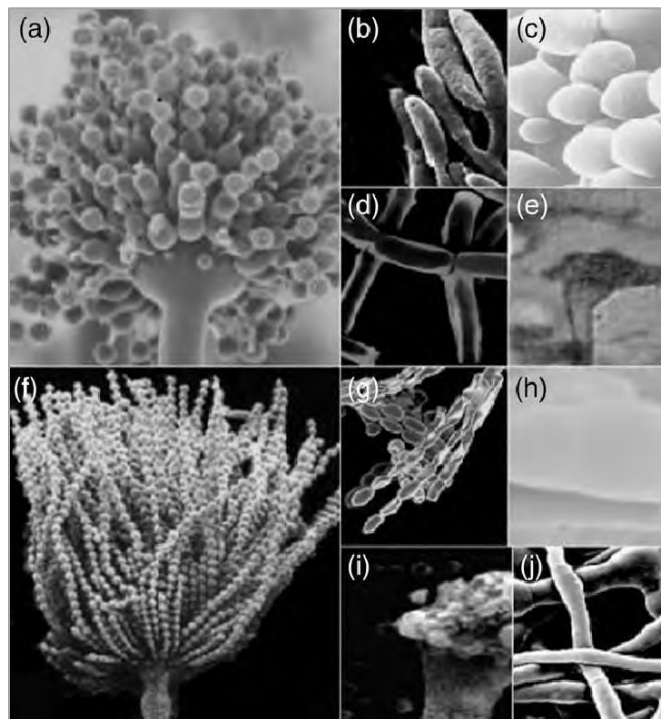


Figura 39. Morfología de *A. niger* visto desde un SEM (Saeed *et al.*, 2018).

La identificación de hongos del género *Aspergillus*, se realiza por lo general de manera molecular, en donde se comparan genes específicos o secuencias parciales denominadas marcadores moleculares de beta-tubulina, calmodulina y el factor de elongación transcripcional 1 α . Además de una identificación de múltiples locus. Sin embargo, esta identificación de múltiples locus a menudo es insuficiente para identificar especies que pertenecen a la sección *Nigri*. Aunando a lo antes mencionado, la identificación de especies de *Aspergillus* de la sección *Nigri* no es fácil debido a sus similitudes fenotípicas (macro y microscópicas) y, por tanto, es necesario utilizar varias estrategias para identificarlas. Por lo que se ha recomendado un enfoque polifásico para delimitar, identificar y describir especies de *Aspergillus*. La identificación polifásica aplica diferentes tipos de datos, como secuencias de ADN, datos morfológicos,

fisiológicos y ecológicos y análisis exhaustivos, con el fin de obtener un mejor resultado. El enfoque polifásico también evita errores que surgen al aplicar únicamente métodos morfológicos y/o moleculares (Díaz *et al.*, 2020).

Aspergillus niger es una especie de hongo considerada como inocua para el ser humano. Sin embargo, estudios han demostrado que altas concentraciones de su moho puede causar infecciones pulmonares, generando aspergilosis pulmonar. En la mayoría de los casos las infecciones pulmonares se han generado principalmente en pacientes gravemente inmunodeprimidos. Las entradas anormales como heridas, quemaduras y lesiones de la mucosa pueden facilitar la infección de *A. niger* en los pacientes, las únicas entradas en la persona sana son los tractos digestivo y respiratorio (Schuster *et al.*, 2002). En el año 2008, Xavier *et al.*, reportaron un caso de traqueobronquitis y aspergilosis pulmonar invasiva en un receptor de trasplante de pulmón causado por *A. niger* en un paciente en estado de inmunosupresión (Xavier *et al.*, 2008). En 2010, Person *et al.*, dieron a conocer un caso de neumonía fúngica necrotizante por *A. niger*, que no respondió al voriconazol en un paciente en tratamiento con esteroides a largo plazo. La patología reveló neumonía aguda y organizada, tinciones compatibles con hifas fúngicas y cristales de oxalato, cumpliendo así los criterios para el diagnóstico de infección invasiva comprobada por *A. niger* (Person *et al.*, 2010). En áreas tropicales, las infecciones del oído (otomicosis) ocurren debido a la invasión de *A. niger*, que causan inflamación local y crecimiento de micelios en el cerumen de la piel del conducto auditivo externo. *Aspergillus niger* se ha aislado en el 5% de los casos de otitis media crónica en Nigeria (1983). Sin embargo, los autores consideran que el hongo es un invasor secundario más que el organismo causante porque en la mayoría de los casos los pacientes habían sido tratados con antibióticos antes de que se aislara *A. niger* de sus oídos. Paldrok (1965) identificó 61 aislados de hongos de lesiones de oído en Suecia, 22 de los cuales pertenecían al grupo de *A. niger*. La alta incidencia de *A. niger* en el oído externo podría deberse al hecho de que los *Aspergilli* son resistentes a la acción fungistática de la cera del oído (cerumen).

Estudios realizados en el 2000 por Moore *et al.*, informaron que *A. niger* presenta resistencia a los azoles (fluconazol y ketoconazol) (Moore *et al.*, 2000). Por lo que es importante considerar nuevos tratamientos contra las patologías causadas por este microorganismo, debido a que puede desarrollar con el tiempo resistencia a más antifúngicos.

Las cepas de *A. niger* producen una serie de metabolitos secundarios, pero solo la ocratoxina A, se consideraba como una micotoxina en el sentido estricto de la palabra (Schuster *et al.*, 2002). Aunque se necesita más investigación para determinar qué condiciones son óptimas para la producción de ocratoxina A por *A. niger*. En 1976 Anderegg *et al.*, encontraron que la DL₅₀ para malformina C, tanto en ratas recién nacidas como en ratas de 28 días, era de 0,9 mg/kg cuando se administraba por vía intraperitoneal.

Posteriormente y de acuerdo a los estudios realizados por Schuster *et al.*, se ha informado la producción de otros compuestos con potencial tóxico, por *A. niger*: las malforminas que constituyen un grupo de péptidos cíclicos estrechamente relacionados que generan deformaciones en las plantas y se han aislado de cultivos de *A. niger*. Además, se ha comprobado la acción tóxica de dos malforminas en roedores: la malformina A1 mostró una DL50 de 3,1 mg/kg cuando se aplicó por vía intraperitoneal, pero no hubo evidencia de toxicidad aguda cuando se administraron por vía oral hasta 50 mg/kg a ratones machos. En sus estudios Schuster *et al.*, se informó, también, que una serie de nafto- γ -pironas, producidas por algunas cepas de *A. niger*, son toxinas del sistema nervioso central en vertebrados. Sin embargo, estos metabolitos secundarios no pueden considerarse micotoxinas, ya que no se ha demostrado que sean tóxicos cuando se administran por vía natural sino después de una inyección intraperitoneal (Schuster *et al.*, 2002). Después, en 2009, Nielsen *et al.*, reportaron que *A. niger* también puede producir fumonisina B2 y fumonisina B4. La fumonisina B2 y B4, junto con las nafto- γ -pironas son actualmente los compuestos más problemáticos, ya que representan un riesgo en la contaminación de los alimentos. También informaron que *A. niger* tiene una distribución muy amplia y se ha reportado que crece y daña un gran número de cultivos y alimentos en todo el mundo, incluidos maíz, cacahuetes, pasas, cebollas, mangos, manzanas y productos cárnicos secos, debido a su invasión fúngica (Nielsen *et al.*, 2009).

La red metabólica de *A. niger* está constituida por 1190 reacciones y 1045 metabolitos, distribuidos en tres compartimentos: extracelular, citoplasmático y mitocondrial. Sin embargo, aún no se conoce a detalle el funcionamiento regulatorio de las diversas enzimas implicadas, ya que es realmente imposible poder medir simultáneamente a todas estas especies (Andersen *et al.*, 2008; Reyes-Ocampo *et al.*, 2013). Este microorganismo es capaz de formar cristales de oxalato de calcio mediante un proceso de fermentación, donde precipita el ácido oxálico (Person *et al.*, 2010).

Aspergillus niger adquirió una gran importancia económica cuando James Currie (1917) publicó un estudio que describió la capacidad del hongo para biosintetizar altas cantidades de ácido cítrico cultivándolo en soluciones de azúcar a pH bajo. Este notable descubrimiento mostró la influencia directa de los factores ambientales y nutricionales en el rendimiento de la producción de ácido cítrico y fue la base para el nacimiento de la industria biotecnológica en 1919 por Pfizer. El ácido cítrico es uno de los productos químicos comerciales más valiosos debido a su amplio uso en formulaciones alimentarias, farmacéuticas y cosméticas (Lima *et al.*, 2019; Nielsen *et al.*, 2009; Schuster *et al.*, 2002). Se utiliza en alimentos como refrescos, jugos de frutas, postres, mermeladas, jaleas, dulces y vino. En la industria farmacéutica, el citrato de hierro se utiliza como fuente de hierro y ácido cítrico como conservante para la sangre almacenada. En las industrias de cosméticos y artículos de tocador se utiliza como tampón, para ajustar el pH y como

antioxidante. Se utiliza en aplicaciones industriales que incluyen detergentes, curtido de cuero, galvanoplastia, entre otras aplicaciones. El ácido cítrico se produce casi exclusivamente por fermentación de *A. niger*, porque los rendimientos de este organismo son económicos y la formación de productos secundarios no deseados es mínima. La Administración de Drogas y Alimentos (FDA) ha incluido *A. niger* como fuente de ácido cítrico (Schuster *et al.*, 2002).

Actualmente el uso de *A. niger* en la industria, principalmente para la producción de ácido cítrico, es considerado una de las mejores alternativas. Esto debido a que presenta una amplia variedad de condiciones nutricionales (fibra de maíz, harina de colza, una mezcla de lignina purificada, celulosa, hemicelulosa y proteína, salvado de trigo, glucosa, lactosa, arabinosa, almidón/maltosa, xilosa, limitación de carbono, limitación de nitrógeno/carbono) (Baker, 2006). Los primeros estudios sobre la producción de ácido cítrico en *A. niger*, reportaron que este se forma principalmente por la vía glucolítica y la posterior condensación de un resto C₄ y C₂. Uno de los hallazgos clave en estas primeras investigaciones fue que los rendimientos de ácido cítrico superiores al 66% solo pueden ocurrir cuando no se pierde el dióxido de carbono liberado en la reacción de piruvato deshidrogenasa. En consecuencia, Cleland y Johnson (1954) demostraron que la biosíntesis de ácido cítrico implica el catabolismo glucolítico de glucosa a dos moles de piruvato, de los cuales uno se convierte en acetil-CoA (liberando un mol de dióxido de carbono) y el otro en oxalacetato (fijando este mol de dióxido de carbono sobre el segundo piruvato) y luego finalmente condensando estos dos precursores en ácido cítrico. Estudios más recientes sobre la compartimentación de la enzima que realiza esta condensación (piruvato carboxilasa) demostraron además que el oxalacetato formado no se usa inmediatamente para la reacción de citrato sintasa (lo cual sería imposible ya que la reacción de piruvato carboxilasa es localizado en el citosol), pero primero es reducido a malato por el malato deshidrogenasa citosólica, entrando así en las mitocondrias a través de un antiportador malato-citrato (Karaffa & Kubicek, 2003). En la figura 40 se presenta lo anterior. Mediante análisis de 1-¹³C-glucosa y RMN, como una herramienta directa para investigar el origen del oxalacetato y acetil-CoA en el ácido cítrico acumulado, se determinó que una cantidad considerable de ácido cítrico se forma en realidad a partir de glicerol y eritritol previamente acumulado y posteriormente reconsumido, los cuales se acumulan como resultado del transporte de triosas y hexosas (Karaffa & Kubicek, 2003).

De manera general, la producción industrial de ácido cítrico requiere el crecimiento aeróbico y sumergido de *A. niger* en una solución de azúcar, que generalmente se deriva de fuentes económicas, como melaza, licor de maceración de maíz o almidón de maíz hidrolizado, entre otros. Después de la fermentación, *A. niger* se elimina físicamente, generalmente por filtración, y el ácido cítrico se aísla por precipitación de la

mezcla de fermentación con hidróxido de calcio para generar la sal de citrato de calcio. El tratamiento posterior con ácido sulfúrico produce el ácido cítrico.

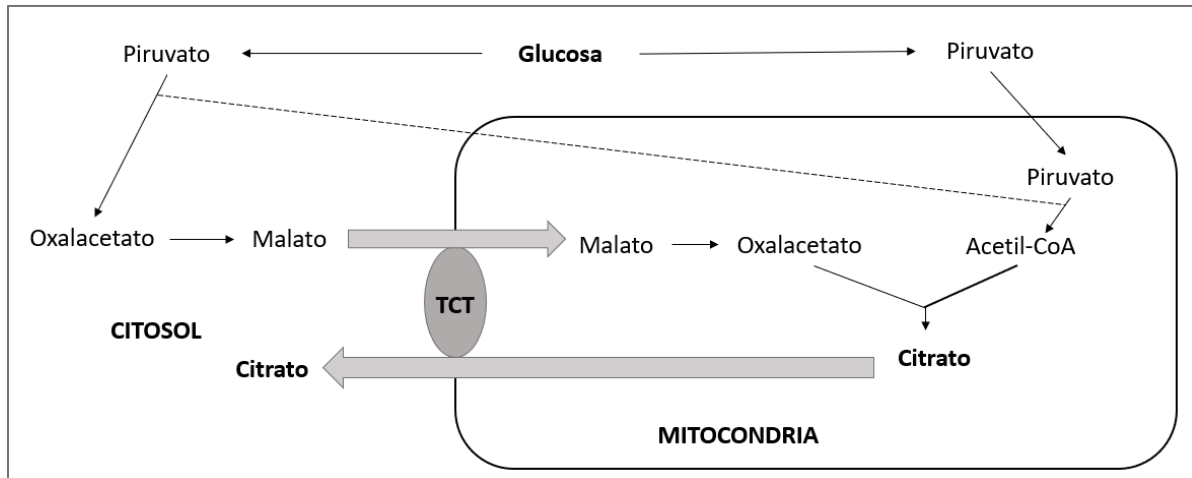


Figura 40. Compartimentación metabólica de la formación de oxalacetato y su papel en la acumulación de ácido cítrico. La línea de puntos indica un proceso de transporte de dióxido de carbono que aún no se ha verificado experimentalmente y, por lo tanto, es hipotético. Transportador de tricarboxilato TCT (Karaffa & Kubicek, 2003).

También se han producido ácidos glucónico y fumárico con *A. niger*, aunque son de menor importancia económica (Andersen *et al.*, 2008; Schuster *et al.*, 2002). Es capaz de producir numerosas enzimas extracelulares, como α -amilasa, oxidasa, catalasa, deshidrogenasa, hidrolasa, celulasa, pectinasa, proteasa, amiloglucosidasa, entre otras (todas de uso industrial) ((Lima *et al.*, 2019; Schuster *et al.*, 2002). Por lo que, desde la década de 1960, *A. niger* se ha convertido en una fuente de una variedad de enzimas que están bien establecidas como ayudas técnicas en el procesamiento de frutas, horneado y en las industrias de almidón y alimentos. A principios de la década de 1960, la FDA emitió cartas de opinión en las que reconocía que la α -amilasa, celulasa, amiloglucosidasa, catalasa, glucosa oxidasa, lipasa y pectinasa de *A. niger* pueden considerarse en general como seguras, con la condición de que se utilicen para su producción cepas no patógenas y no toxigénicas empleando las buenas prácticas de fabricación (Nielsen *et al.*, 2009; Schuster *et al.*, 2002).

Aunado a lo anterior *A. niger* ha sido propuesto como una alternativa prometedora para industrias que requieren organismos capaces de realizar el procesamiento de biomasa celulósica, debido a que es un productor eficiente de enzimas hidrolíticas como las celulasas. Entre estas enzimas hidrolíticas se reportaron tres: carboximetilcelulasa, β -glucosidasa y celobiohidrolasa (Díaz *et al.*, 2020).

También se ha propuesto el uso de *A. niger*, como alternativa para la síntesis verde de nanopartículas de plata (AgNP). Las AgNP tienen el potencial de servir como un antibiótico alternativo de amplio espectro,

para controlar infecciones microbianas causadas por patógenos resistentes a múltiples fármacos. Estas nanopartículas no son tóxicas para el cuerpo humano en concentraciones bajas. Además, la biosíntesis de nanopartículas ha recibido una atención cada vez mayor debido a la creciente necesidad de desarrollar tecnologías seguras, rentables y respetuosas con el medio ambiente para la síntesis de nanomateriales (Sagar & Ashok, 2012).

Desde ya hace varios años, *Aspergillus niger* ha ido adquiriendo importancia ambiental, debido a su potencial para la biorremediación de aguas residuales, principalmente. Es utilizado para la biosorción de iones de metales pesados (Cd, Hg, Pb, Ag, Cu, Zn, Ni y Cr) de las aguas residuales (Kapoor & Viraraghavan, 1997; Kapoor *et al.*, 1999; Price *et al.*, 2001). Estudios realizados en el año 2000 por García *et al.*, reportaron el uso de *A. niger* para la eliminación de compuestos fenólicos de aguas residuales de almazara. Este es un residuo líquido del proceso de fabricación del aceite de oliva, que contiene compuestos aromáticos de bajo peso molecular (García *et al.*, 2000). Posteriormente en el 2001 Price *et al.*, reportaron que este microorganismo es capaz de eliminar el 91% del cobre y el 70% del zinc del efluente porcino tratado, mediante el mecanismo de absorción interna de los metales en los componentes de la pared celular de los hongos o la complejación de los metales con los ácidos orgánicos producidos por el hongo (Price *et al.*, 2001). Después estudios realizados en el 2002 por Schuster *et al.*, informaron que *A. niger* es utilizado ampliamente para el tratamiento de aguas residuales del procesamiento en la elaboración de frijoles horneados, la fermentación alcohólica de residuos alcalinos de cáscara de papa, la utilización del grano usado de la cervecería y el tratamiento fúngico de los desechos de remolacha (Schuster *et al.*, 2002). Además, ese mismo año Fu y Viraraghavan, reportaron que *A. niger* es capaz de eliminar tintes en solución acuosa. Los diferentes grupos funcionales en la biomasa fúngica de *A. niger* juegan diferentes roles en la biosorción de diferentes tintes. Reportaron la biosorción de azul básico 9 en biomasa fúngica de *A. niger*. Informaron que los mecanismos son similares a los de la biosorción de metales pesados. Los grupos carboxilo y amino son los principales sitios de unión, mientras que el grupo fosfato y la fracción lipídica no lo son. En la biosorción de azul ácido 29 en la biomasa fúngica, la atracción electrostática podría ser el mecanismo principal. En la biosorción del rojo Congo en la biomasa fúngica, los grupos amino, ácido carboxílico, fosfato y la fracción lipídica podrían ser sitios de unión importantes. Además de la atracción electrostática, otros mecanismos pueden estar involucrados en la biosorción del rojo Congo. En la biosorción de Disperse Red 1 en biomasa fúngica, el mecanismo es diferente al de los otros tres colorantes iónicos, donde la atracción electrostática podría ser solo una parte de todo el mecanismo. Reportaron que la adsorción física y química puede ocurrir al mismo tiempo, y que los grupos amino y la fracción lipídica extraída con acetona son los principales sitios de unión, mientras que los grupos de ácido carboxílico podrían ser sitios

de unión menores. Además, los grupos fosfato podrían ser sitios de unión potenciales (Fu & Viraraghavan, 2002). En el 2006, Dursun *et al.*, reportaron que los valores de pH óptimos para el crecimiento y la acumulación de iones metálicos, en *A. niger*, son 3.5, 4.5 y 5 para los iones de cobre (Cu^{2+}), plomo (Pb^{2+}) y cromo (Cr^{6+}), respectivamente. Aunque también se ha demostrado que a ciertas concentraciones de los iones metálicos causan un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *A. niger*, el cual es capaz de eliminar el Cu^{2+} y el Pb^{2+} con una capacidad de absorción específica máxima de 15.6 y 34.4 mg/g a 100 mg/dm³ de concentración inicial de Cu^{2+} y Pb^{2+} , respectivamente. Mientras que el crecimiento de *A. niger* se ve más afectado por los iones de Cr^{6+} siendo inhibido con una concentración inicial de Cr^{6+} de 75 mg/dm³, y presentando cierta inhibición a concentraciones más bajas. Además *A. niger* presenta una alta resistencia al Cu^{2+} y al Pb^{2+} , por lo que es capaz de acumular estos iones metálicos a altas concentraciones (Dursun *et al.*, 2003). En el 2011 Joshi y su grupo realizaron un estudio relacionado con la biorremediación de metales pesados en medios líquidos utilizando hongos aislados de fuentes contaminadas. En sus estudios reportaron setenta y seis aislados fúngicos tolerantes a los metales pesados Pb, Cd, Cr y Ni, que fueron aislados de aguas residuales, lodos y efluentes industriales que contenían metales pesados. La mayoría de los hongos aislados fueron capaces de tolerar concentraciones de Pb, Cd, Cr y Ni de hasta 400 ppm. Ellos estudiaron los hongos más tolerantes a metales pesados para eliminación de metales pesados de medios líquidos a una concentración de 50 ppm. Se observó que *A. niger* presentó la eliminación de una concentración elevada de Pb, Cd, Cr y Ni (Joshi *et al.*, 2011). En 2012 estudios realizados por Thippeswamy *et al.*, reportaron el potencial de bioacumulación de *A. niger* en la eliminación de metales pesados en efluentes de fábricas de papel. En este estudio se demostró la tolerancia y la acumulación de los metales tóxicos Ni, Zn, Cd, Pb, Cr y Cu en medio sintético y en efluentes de fábricas de papel. De acuerdo con sus resultados *A. niger* fue capaz de tolerar y crecer en 1000 mg/L Pb, 500 mg/L Cu, 250 mg/L Zn y 100 mg/L de Cr y Ni, (Thippeswamy *et al.*, 2012). En 2012 Al-Nasrawi reportó que *A. niger* tiene la capacidad de biodegradar petróleo crudo, con una pérdida de peso de 8.6% (Al-Nasrawi, 2012). Además, en el 2020 Díaz *et al.*, informaron que el crecimiento de *A. niger* en medio agar Czapek con extracto de levadura (CYA) suplementado con trozos de fruta y arroz, genera la producción de esclerocios, que le permiten sobrevivir en condiciones desfavorables (Díaz *et al.*, 2020). Estudios realizados por Felipe-Collado en el 2022 de una cepa de *A. niger* aislado en una solución de degradado alcalino de PET, en la Universidad del Papaloapan, Tuxtepec, Oaxaca, reportó como este microorganismo es capaz de crecer en estas condiciones. Sin embargo, reportó también que este solo es capaz de crecer cuando se encuentra en consorcio con otros hongos como *Acremonium*, mencionado anteriormente (Felipe-Collado, 2022). Esto hace que *A. niger* sea considerado una alternativa para la biorremediación de ambientes contaminados con una gran diversidad

de agentes tóxicos, además de que al estar en consorcio con otros hongos sean tolerantes a metales o otros compuestos tóxicos.

- ***Fusarium sp.***

El género está conformado por un grupo de hongos filamentosos de diversas especies, perteneciente a la familia *Nectriaceae*. Generalmente presenta una fiálide fina, con forma de botella, simple o ramificada, cortas o largas, monofialídica (es decir, que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros). Los macroconidios presentan forma de medialuna, hialinos y septados, de 1-2 μm de diámetro. Para su correcta clasificación es importante considerar el largo, ancho, curvatura, septos, agrupaciones mucoides (esporodoquios) y detalles de las células de los extremos (célula apical y pie). Los microconidios miden 1-3 μm de largo por 1 μm de ancho. En algunas especies estas estructuras se encuentran ausentes. Pueden poseer formas variadas (fusiformes, ovales, clavadas, entre otras), agrupaciones (estructuras mucoides llamadas “falsas cabezas”), en cadenas largas o cortas. Presenta conidióforos delgados que miden 5-10 μm de largo. Dentro de sus características macroscópicas de sus colonias en cultivos en un inicio (1 a 3 días) es blanca, para tornarse en tonalidades naranja, café o violeta-lila (dependiendo de cada especie); su forma y aspecto son vellosa-seca, y al reverso de la caja Petri presenta color naranja o violeta, difusible al medio (Bonifaz, 2012; Rentería-Martínez *et al.*, 2019). En la figura 41 a se muestra un cultivo de una cepa de *Fusarium sp.* y en la figura 41 b se observa sus características microscópicas a través de un microscopio óptico (40x) después de una tinción con azul de algodón (Bonifaz, 2012).

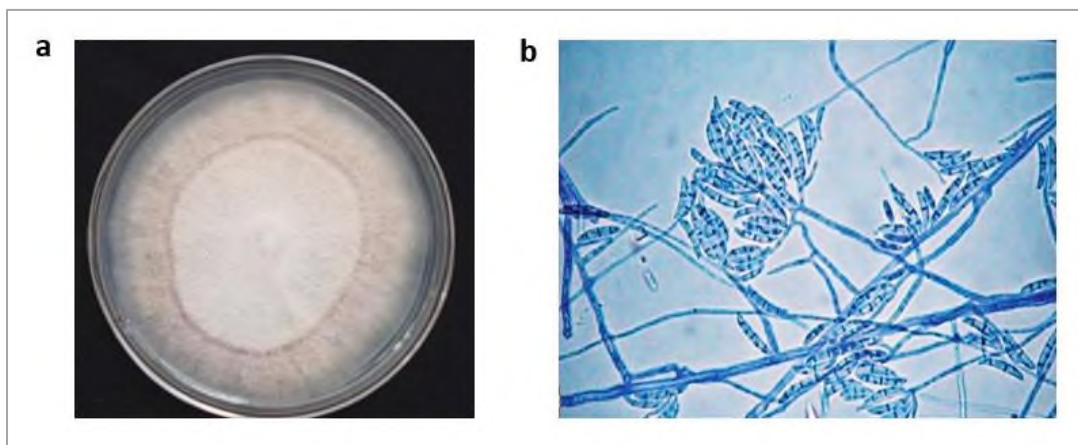


Figura 41. Características macroscópicas y microscópicas de *Fusarium sp.* (Bonifaz, 2012).

En la figura 42 se observan algunos ejemplos de macroconidios y microconidios de especies del género *Fusarium*, a: *F. brachygibbosum*, b: *F. falciforme* y c: *F. oxysporum*, y microconidios de d: *F. brachygibbosum*, e: *F. falciforme* y f: *F. oxysporum* (Bonifaz, 2012; Rentería-Martínez *et al.*, 2019).

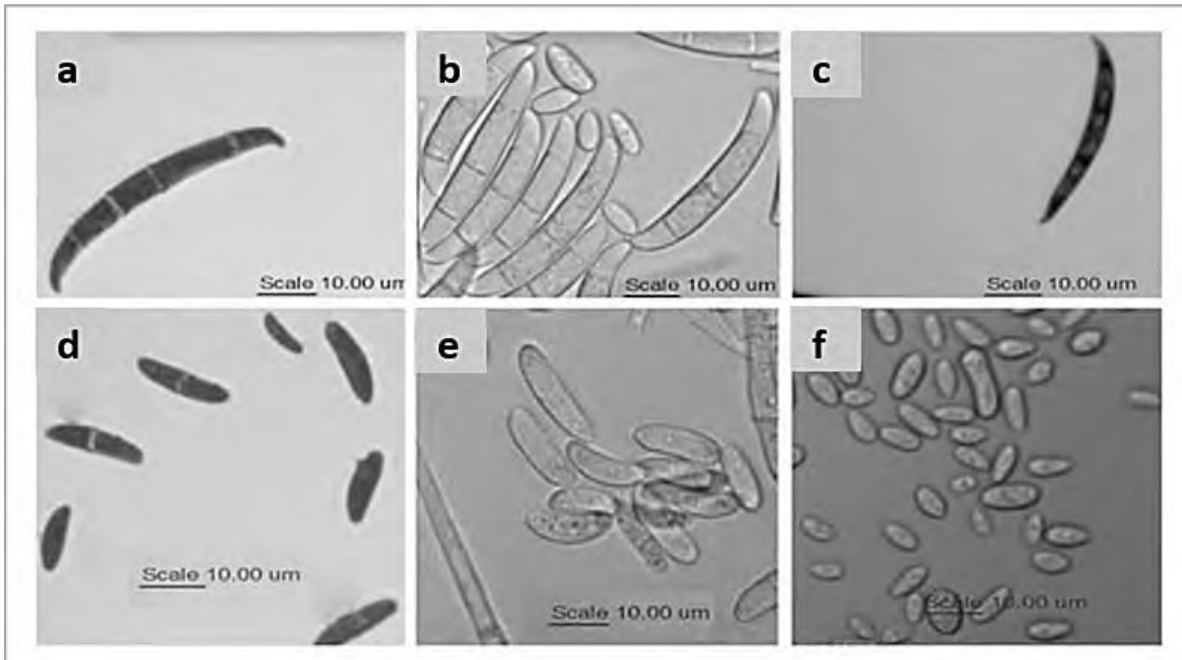


Figura 42. Morfología de macroconidios y microconidios de las tres especies de *Fusarium* patogénicas de sandía. (Rentería-Martínez *et al.*, 2019).

Otro tipo de conidios son los mesoconidios, que son similares, pero de menor tamaño que los macroconidios y nunca forman estructuras mucoides. Poseen clamidosporas características con doble pared gruesa, lisa o rugosa; de manera aislada, en pareja o en grupo (Leslie & Bullock, 2006, Tapia & Amaro, 2014). En la figura 43 se observan algunos ejemplos de clamidosporas de especies del género *Fusarium*, a: *F. brachygibbosum*, b: *F. falciforme* y c: *F. oxysporum*, y morfología de células conidiógenas de d: polifiálides y monofiálides de *F. brachygibbosum*, e: monofiálide de *F. falciforme* y f: monofiálides de *F. oxysporum* (Rentería-Martínez *et al.*, 2019).

Existen distintos medios que permiten el crecimiento de *Fusarium sp.*, entre ellos agar papa dextrosa (PDA), agar Sabouraud, agar Clavel (CLA), agar de Spezieller Nährstoff-farmer (SNA) y agar avena. Los agares PDA y Sabouraud permiten observar el diámetro de la colonia, morfología y pigmento (café, rojo, violeta, naranja, gris, blanco) difusible al medio, mientras que el agar CLA, permite observar el desarrollo de cadenas de microconidios y morfología en detalle de macroconidios (Tapia & Amaro, 2014).

Pueden sobrevivir y extenderse en una amplia variedad de condiciones ambientales, esto debido a que es capaz de crecer a 37 °C. La mayoría de las especies son saprótrofos y se encuentran ampliamente distribuidos en el suelo y plantas. La primera descripción de *Fusarium* fue reportada en 1809 por Link y desde entonces se han identificado más de mil especies (Leslie & Bullock, 2006; Stępień *et al.*, 2020).

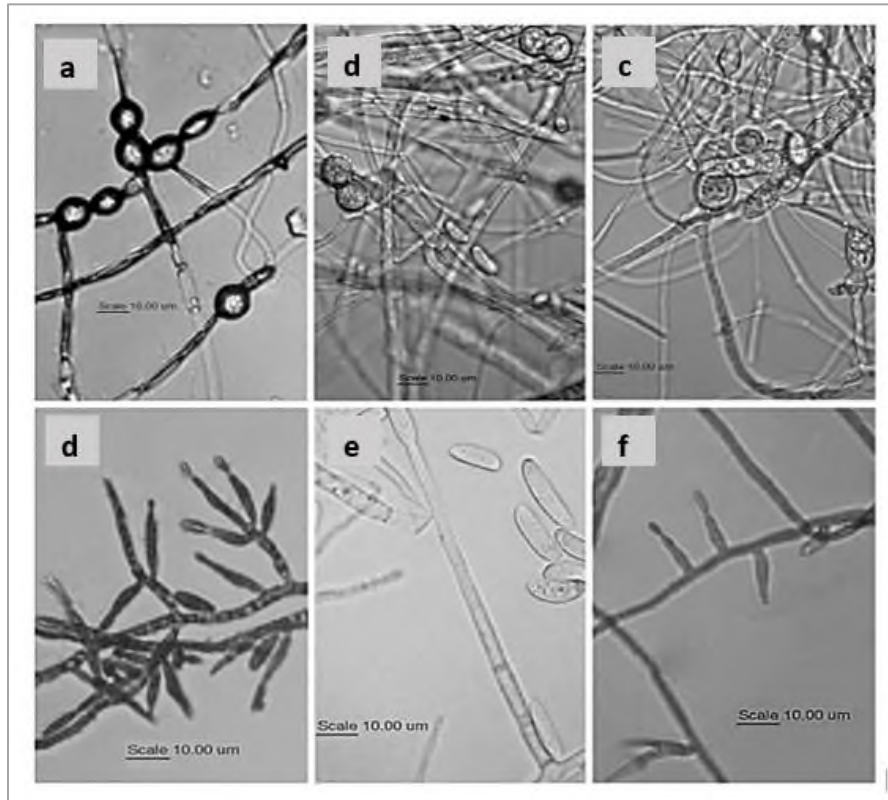


Figura 43. Morfología de clamidosporas y células conidiógenas de especies del género *Fusarium* (Rentería-Martínez *et al.*, 2019).

De acuerdo con estudios realizados en el 2020 por Stępień *et al.*, algunas especies de *Fusarium* tienen el potencial genético de producir cientos de metabolitos secundarios estructuralmente diversos, que son generalmente micotoxinas, de los cuales la mayoría tienen funciones ecológicas poco conocidas o completamente desconocidas. Estas sustancias generalmente se producen en procesos bioquímicos complejos, incluidas las rutas metabólicas de policétidos, terpenoides y aminoácidos. Las rutas biosintéticas de micotoxinas involucran varios genes regulados coordinadamente y funcionalmente relacionados agrupados físicamente en grupos que pueden coexpresarse en condiciones específicas. Generalmente, estos genes pueden identificarse mediante la presencia de cuatro clases de enzimas: terpeno ciclasas (TC), dimetilalilriptófano sintasas (DMATS), policétido sintasas (PKS) y péptido sintetasas

no ribosomales (NRPS), que catalizan la condensación o reordenamiento de moléculas simples para formar estructuras más complejas. Por lo general, los grupos contienen también los genes centrales responsables de las modificaciones estructurales del metabolito inicial, los transportadores para el traslado del metabolito y los factores de transcripción para la regulación coordinada de los genes del grupo. Estos productos químicos sufren múltiples modificaciones enzimáticas para formar metabolitos secundarios biológicamente activos y que son transportados a su sitio de actividad (Stępień *et al.*, 2020).

Diversos estudios han informado que varias especies del género *Fusarium*, producen una gran variedad de micotoxinas que afectan al ser humano, animales y plantas, de forma directa e indirecta (Stępień *et al.*, 2020; Tapia & Amaro, 2014). En el 2004 Dignani y Anaissie informaron que las enfermedades causadas por *Fusarium* son conocidas como fusariosis. La fusariosis humana es poco común y generalmente ocurre en personas con deterioro de los tejidos o pacientes con un sistema inmunológico alterado, con una alta mortalidad. Los síntomas de estas enfermedades suelen ser queratitis y onicomicosis causadas principalmente por *F. verticillioides*, *F. oxysporum* y *F. solani*. Las micotoxicosis ocurren con más frecuencia que la fusariosis y son el efecto de la ingestión de metabolitos secundarios de hongos tóxicos. Estudios realizados en el 2014 por Antonissen *et al.*, informaron que la exposición a las micotoxinas se produce principalmente a través del consumo de alimentos contaminados, pero también es posible por la respiración. Además, se ha reportado que muchos de estos compuestos no se degradan durante los procesos tecnológicos de los alimentos incluso en condiciones de alta temperatura y presión. También informaron que la exposición a micotoxinas puede ocurrir a través del consumo de productos animales contaminados como carne, leche o huevos porque algunos compuestos pasan de los materiales derivados de plantas a los tejidos animales y pueden excretarse con la leche (por ejemplo, aflatoxinas) (Antonissen *et al.*, 2014).

Sin embargo, la fusariosis animal y humana no es tan común como la fusariosis vegetal. En los estudios realizados por Stępień *et al.*, se informó que muchas especies del género *Fusarium* son patógenos oportunistas, ya que son capaces de infectar a múltiples especies de plantas en una gran variedad de zonas climáticas. Esto causa enormes pérdidas económicas anuales en el rendimiento de casi todos los cultivos en todo el mundo. Las esporas de *Fusarium* infectan las plantas y luego desarrollan hifas dentro de los órganos de las plantas, como hojas, tallos, semillas, flores y raíces. Provocando cambios en el metabolismo de las células huésped, destrucción de tejidos y, finalmente, el desarrollo de numerosas enfermedades (Stępień *et al.*, 2020). Se conocen numerosos reportes sobre enfermedades causadas por micotoxinas de *Fusarium*. Estudios realizados en el 2014 por Stępień, dieron a conocer que las fumonisinas son un grupo de micotoxinas producidas principalmente por las especies *F. verticillioides* y *F. proliferatum*

ambos capaces de infectar el maíz como hospedador típico. Dentro de estas, las más frecuentes son: la fumonisin B1 y B2 provocan encefalomalacia equina, el deoxinivalenol provoca vómitos y diarrea, y la zearalenona ocasiona cáncer de mama. El tricoteceno, otra micotoxina producida por *Fusarium*, tiene una gran importancia económica y toxicológica. Estos compuestos son estructuralmente sesquiterpenoides con un anillo tricíclico de 12,13-epoxitrothec-9-eno que puede estar químicamente sustituido en varias posiciones, lo que da como resultado, múltiples derivados. Hay más de 200 derivados de tricoteceno que se pueden agrupar en cuatro grupos principales: tipos A, B, C y D. Los tricotecenos de tipo A caracterizados por sustitución de hidroxilo o éster en C-8, contienen diacetoxiscirpenol (DAS), toxina T-2, toxina HT-2 y neosolaniol. La toxina T-2 es el tricoteceno más tóxico en animales. Los productores más importantes de tricotecenos tipo A son *F. sporotrichioides*, *F. langsethiae*, *F. poae*, *F. sambucinum*, *F. armeniacum* y *F. venenatum*. Pueden desarrollarse en una variedad de cereales, especialmente en regiones de clima frío o durante las condiciones de almacenamiento. Los tricotecenos de tipo B contienen un grupo ceto C-8 y son producidos por varias especies de *Fusarium*, particularmente del complejo de especies de *Fusarium graminearum*: *F. graminearum sensu lato*, *F. culmorum*, *F. pseudograminearum* y *F. cerealis*. Los tricotecenos de tipo C son un grupo menor de toxinas producidas por varios otros géneros de hongos, y el tipo D incluye compuestos producidos por especies de *Stachybotrys* que se consideran riesgos importantes de moho en interiores. Los tricotecenos de tipo B se encuentran entre los compuestos de micotoxinas más tóxicos. El mecanismo de acción de esta micotoxina se basa en la inhibición de la síntesis de proteínas en eucariotas. Los tricotecenos interactúan con la enzima peptidil transferasa que se une a la subunidad ribosómica 60S, esto provoca la inhibición de la traducción. El mecanismo de acción alternativo implica la activación de numerosas proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPKs). Los seres humanos y los animales que han consumido micotoxinas de tricoteceno presentan diversos síntomas, como vómitos, mareos, diarrea y aborto espontáneo (Stępień, 2014). Posteriormente en el 2020 Stępień *et al.*, informó que la zearalenona es una micotoxina de lactona de ácido resorcílico fenólico con baja toxicidad aguda que no causa toxicosis fatal. Se asocia principalmente con el maíz, pero también se encuentra en el trigo, la cebada y el sorgo. Además, puede causar problemas reproductivos en animales de granja, especialmente en cerdos. La zearalenona es producida por varias especies de *Fusarium* que generalmente también producen tricotecenos tipo B. Los hongos pertenecientes al complejo de especies de *F. graminearum* son considerados los productores más importantes de zearalenona. El ácido fusárico es un derivado del ácido picolínico, que se aisló por primera vez de cepas de *Fusarium heterosporum*. Sin embargo, más tarde se demostró que otras especies de *Fusarium*, por ejemplo, *F. verticillioides*, *F. fujikuroi* y *F. oxysporum*, también fueron capaces de producir esta micotoxina. El ácido fusárico muestra un

impacto moderado en la salud de los mamíferos, pero está documentada su alta toxicidad para las plantas. Además, este compuesto es el responsable del desarrollo de la "marchitez por *Fusarium*" a través de la peroxidación de lípidos, el aumento de especies reactivas de oxígeno y, finalmente, la muerte de las células huésped. El ácido fusárico también causa la enfermedad de las bakanae en las plántulas de arroz y tiene una fuerte actividad antimicrobiana, inhibiendo la detección de cuórum en bacterias Gram-negativas. El cuórum es un mecanismo de regulación de la expresión genética en respuesta a la densidad de población celular. Las fusarinas A, C y D son un grupo de metabolitos secundarios formadas por una cadena de polieno unida al anillo 2-pirrolidona. Además, la fusarina C contiene un grupo epóxido en el anillo de pirrolidona, a diferencia de las fusarinas A y D (Stępień et al., 2020). El primer informe sobre fusarina C producida por el patógeno del maíz *F. moniliforme* (ahora *F. verticillioides*) se publicó en 1981 en Norteamérica. Estas micotoxinas también son producidas por otros *Fusarium*, por ejemplo, *F. fujikuroi*, *F. graminearum* y *F. venenatum*. La toxicidad de la fusarina C no se investigó ampliamente hasta ese entonces, pero la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer la reconoció como posible carcinógeno para el ser humano. Su efecto mutagénico probablemente esté relacionado con la interacción del grupo epóxido con el ADN (Bever et al., 2000). De acuerdo con estudios realizados en 2017 por Munkvold, se sabe que algunos complejos de especies de *Fusarium* todavía se clasifican como grupos distintos dentro de la especie, los llamados *formae specialis* (f.sp.) en función del huésped específico que pueden infectar. *Fusarium oxysporum* es la especie con mayor número de *formae specialis*. Ejemplo de estos grupos es el complejo de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, que causa la marchitez en tomate, mientras que el complejo *F. oxysporum* f.sp. *cubense* causa la enfermedad de Panamá en el banano (Munkvold, 2017).

Desde 1997 Pujol et al., reportaron una alta resistencia *in vitro* de especies *Fusarium* a la anfotericina B, el fármaco más activo contra estos hongos. Dentro de sus estudios reportaron que la CMI₉₀ (concentración mínima inhibitoria que inhibe a 90% de la población evaluada) de anfotericina B para 58 aislamientos de *Fusarium* después de 48 y 72 horas de incubación fueron 4.62 mg/mL y 18.47 mg/ml, respectivamente (Pujol et al., 1997). Aunque existen diversos estudios donde reportan la eficacia de plantas contra este hongo. En los 2003 estudios realizados por Daferera et al., reportaron la eficacia de los aceites esenciales de orégano, tomillo, dictamnus, mejorana, lavanda, romero, salvia y poleo contra *Fusarium* sp (Daferera et al., 2003). De acuerdo con lo anterior es importante considerar nuevos tratamientos contra este hongo, para evitar su resistencia a nuevos fármacos, así como alertar a la población sobre el uso adecuado de los tratamientos con antifúngicos.

De acuerdo con estudios realizados por Trisuwan et al., *Fusarium* produce una amplia gama de pigmentos, con colores que van desde el rosa, pasando por el rojo carmín hasta el púrpura, pero algunas especies

también pueden producir pigmentos amarillos y marrones. Los pigmentos se pueden ver mejor durante la incubación del hongo en medios microbiológicos ricos en el reverso de la placa. Los colores de la pigmentación fúngica dependen del medio aplicado, su composición y pH. La mayoría de los pigmentos producidos por *Fusarium* son naftoquinonas y javanicina, anhidrojavanicina, fusarubina, anhidrofusarubina, bikaverina, bostricoidina, novarubina y dímero de naftoquinona; la aurofusarina pertenece a este grupo. Muchos de estos compuestos tienen propiedades antifúngicas y antibacterianas que a veces inhiben el desarrollo de líneas celulares de laboratorio (por ejemplo, las células HeLa) (Trisuvan *et al.*, 2010).

En el 2002 Linnemannstöns *et al.*, informaron que los carotenoides son pigmentos característicos de color amarillo y naranja, son tetraterpenoides y juegan un papel en la fotosíntesis, la fotoprotección y la señalización de las plantas, pero en los hongos no se ha encontrado ninguna otra función significativa además de la pigmentación. Los carotenoides se identificaron por primera vez en cultivos de *F. aquaeductum* pero más tarde también en *F. fujikuroi* y *F. oxysporum*. Las especies de *Fusarium* son capaces de producir β -caroteno, licopeno y neurosporaxantina gracias al grupo de genes *car* que codifica las enzimas involucradas en la biosíntesis de carotenoides (Linnemannstöns *et al.*, 2002). En el año 2017 Avalos informó que la biosíntesis de carotenoides es básicamente una continuación de la biosíntesis del ácido mevalónico debido al uso de pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP) como primer sustrato. Los genes *carRA* y *carB* fueron los primeros genes involucrados en la biosíntesis de carotenoides que se descubrieron. La ciclasa codificada por *carRA* cataliza la transformación de dos unidades de GGPP en 15-*cis*-fitoeno que se convierte en neurosporeno por la desaturasa codificada por *carB*. Entonces, este compuesto sirve como sustrato para la formación de γ -caroteno. Es posible que se den dos productos intermedios en esta reacción y el resultado depende de qué enzima actúa primero, ciclasa o desaturasa. Si la desaturasa es la primera enzima que actúa, el producto intermedio será el licopeno y en dado caso que sea la enzima ciclasa, el producto será el β -zeacaroteno. La carotenoidogénesis puede divergir en dos formas en este punto. Usando el primero, la ciclasa convierte el γ -caroteno en β -caroteno que puede ser transformado por la oxigenasa (codificada por *carX*) en dos unidades de retinol. Usando la segunda ruta, el γ -caroteno es desaturado en toruleno por la primera oxigenasa (codificada por *carT*) en β -apo-4'-carotenol que finalmente se convierte en neurosporaxantina gracias a la acción de la oxigenasa (codificada por *carD*) (Avalos *et al.*, 2017). Varios autores han informado que en la carotenoidogénesis pueden participar reguladores dependientes e independientes de la luz. La exposición prolongada a la luz estimula la expresión de *carRA*, *carB*, *carO*, *carX* y *carT*, y conduce a la acumulación de pigmento, mientras que el gen *carD* es insensible a la fotoinducción. A su vez, las condiciones de alto contenido de nitrógeno reprimen

la biosíntesis de carotenoides. Parece haber un impacto significativo de *carS* en la regulación dependiente del nitrógeno. Los mutantes Δ *carS* producen mayores cantidades de carotenoides que los de tipo salvaje en medios que contienen altas cantidades de nitrógeno, pero este mecanismo aún no está claro (Avalos *et al.*, 2017; Stępień *et al.*, 2020).

La bikaverina es un pigmento rojo de estructura policétida producido por varias especies de *Fusarium* (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. fujikuroi*, *F. proliferatum* y *F. verticillioides*), siendo *F. oxysporum* la primera especie de la que se obtuvo el aislado de bikaverina (Stępień *et al.*, 2020). Deshmukh *et al.*, informó de la producción de bikaverina en una cepa de *Fusarium sp.* Aislada en ambientes extremos, en plantas de tratamiento de efluentes, presento actividad antitumoral y antimicrobiana. Además, este compuesto antimicrobiano ha mostrado actividad contra bacterias patógenas y resistentes a múltiples fármacos. El uso de este microorganismo para la producción de bikaverina se podría considerar como una alternativa para la producción de este compuesto a nivel industrial (Deshmukh *et al.*, 2014).

Desde 1988 Ramadan *et al.*, reportaron una cepa de *Fusarium sp.*, que mostró tendencia a tolerar altas concentraciones de selenio (Se) en forma de selenito de sodio (Na_2SeO_3) hasta un 3.5% (p/v), que fue aislada del suelo del Sinaí en Egipto. Durante el estudio *Fusarium sp.*, presentó algunas distorsiones morfológicas, de acuerdo con sus observaciones en el microscópico. Sin embargo, *Fusarium sp.*, fue capaz de eludir el efecto tóxico del Se. Los resultados presentados en este reporte demostraron diferentes mecanismos de defensa contra la intoxicación con Se. Entre estos, se sabe que posee una fuerte capacidad reductora ya que puede precipitar grandes cantidades de Se elemental (0.420 mg) dentro de sus células, así como en la superficie de sus hifas y esporas. Reportaron también que la presencia de Se aumentó el contenido celular de carbohidratos, proteínas y lípidos. Además, de inducir la biosíntesis de varios tipos de proteínas de bajo peso molecular. Estos mecanismos de respuesta pueden interpretarse como un proceso de equilibrio o probablemente un modo de compensación para evitar una acción nociva sobre ciertos compuestos celulares pertenecientes a esos grupos, o más probablemente, la síntesis de varios compuestos, que se unirían al elemento. Los estudios de etiquetado indicaron la incorporación de selenito en ciertos aminoácidos: selenocisteína y ácido selenocisteico, como mecanismo de respuesta, para evitar su incorporación en proteínas (Ramadan *et al.*, 1988).

En el 2007 Cai *et al.*, reportaron que el hongo *Fusarium sp.*, fue capaz de crecer utilizando fenol como única fuente de carbono. Ellos reportaron que la cepa exhibió dos dioxigenasas, catecol 1,2-dioxigenasa (C12) y catecol 2,3-dioxigenasa (C23), en extractos de células libres obtenidos de células cultivadas exclusivamente en fenol o con sacarosa añadida, lo que sugiere que el catecol intermedio se puede oxidar en el catalizador, vía de *orto* y *meta*-escisión. Las sales minerales añadidas en el cultivo inhibieron tanto

el C12 como el C23. Además, demostraron que estas dos enzimas pueden actuar y retener su capacidad catalítica en amplios rangos de temperatura y pH. La actividad de C12 fue óptima a pH 6,8 y 40 °C, con actividad significativa en el rango de pH 3 a pH 8,8, y en el rango de temperatura de 30 a 50 °C. En comparación con el C12, la actividad del C23 fue levemente más sensible al pH, el C23 tuvo mayor actividad en condiciones de alcalinidad de pH 7.4 a pH 10.6 y fue más estable a temperaturas más altas de 30 a 75 °C (Cai *et al.*, 2007). J. Li y colaboradores (2011), reportaron una cepa de *Fusarium sp.*, con capacidad para degradar 4-clorofenol (4-CP). Se reportó que la cepa *Fusarium sp.*, mostró una alta capacidad para degradar 4-CP en solución, con valores óptimos de pH, concentración de sacarosa y temperatura, los cuales fueron pH 7,1 g/L y 30 °C, respectivamente. El metabolismo del 4-CP reportado indica que el 4-CP se convierte en 4-clorocatecol en primer lugar, y luego el anillo abierto por las dos dioxigenasas (clorocatecol 1,2-dioxigenasa (CC120) y clorocatecol 2,3-dioxigenasa (CC230)), a través de vías *orto* y *meta*-escisión, los productos pueden declorarse más y pasar al ciclo del ácido tricarboxílico, y finalmente mineralizarse completamente (Li *et al.*, 2011). En la figura 44 se muestra de manera general este mecanismo.

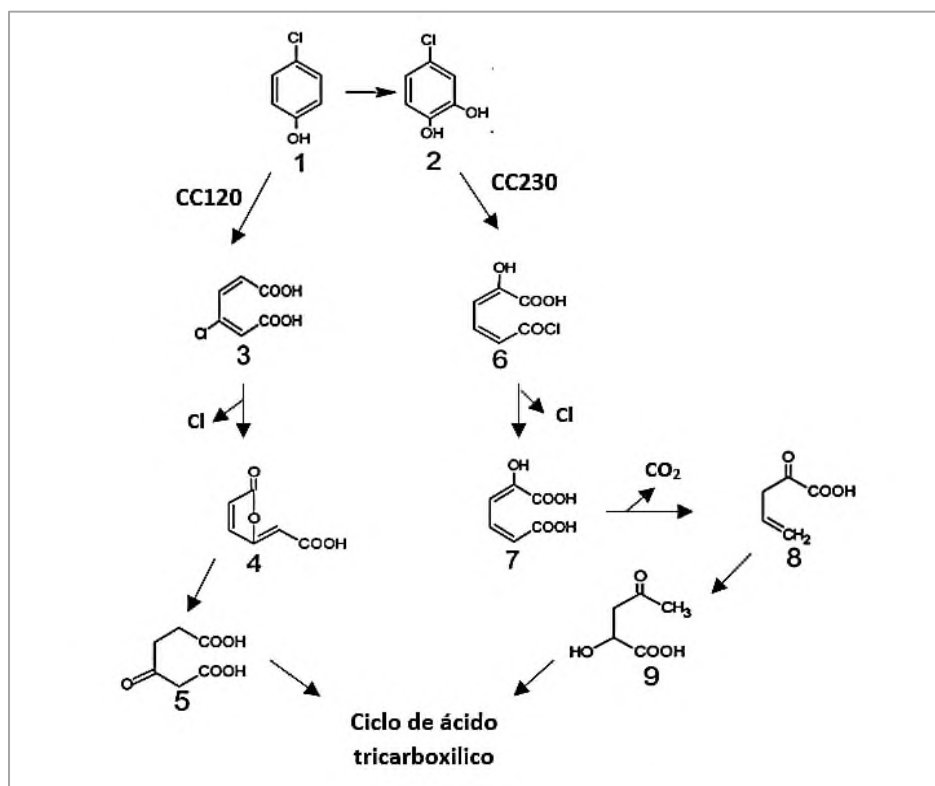


Figura 44. Vía propuesta para la degradación de 4-clorofenol por *Fusarium sp.* 1,4-clorofenol; 2,3-clorocatecol; Ácido 3, 3-cloro-cis, cis-mucónico; 4, lactona; Ácido 5, 3-cetoadípico; Ácido 6, 5-cloroformilpenta-2,4-dienoico; Ácido 7, 2-hidroxi-hexa-2,4-dienoico; Ácido 8, 2-hidroxi-hexa-2,4-dienoico; Ácido 9, 2-hidroxi-4-cetopentanoico (Li *et al.*, 2011).

Dodge y Wackett en el 2005, reportaron el crecimiento de una cepa *Fusarium* utilizando subsalicilato de bismuto como única fuente de carbono y lodos activados como inóculo. La cepa creció a densidades equivalentes al utilizar salicilato o subsalicilato de bismuto como fuentes de carbono. El nitrato de bismuto a concentraciones de hasta 200 mM no limitó el crecimiento de este organismo en la glucosa. La concentración de bismuto soluble en suspensiones de subsalicilato de bismuto disminuyó durante el crecimiento de *Fusarium sp.* A través de la microscopía electrónica de transmisión y la espectroscopía de dispersión de energía revelaron que el bismuto acumulado estaba localizado en gránulos ricos en fósforo distribuidos en el citoplasma y las vacuolas. También extrajeron polifosfatos de cadena larga de biomasa fresca cultivada en subsalicilato de bismuto y la espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente mostró que estas fracciones también contenían altas concentraciones de bismuto. Los ensayos de actividad enzimática de extractos brutos de *Fusarium sp.*, mostraron que el salicilato hidroxilasa y el catecol 1,2-dioxigenasa se indujeron durante el crecimiento del salicilato, lo que indica que este organismo degrada el salicilato por conversión de salicilato en catecol, seguido de *orto* escisión del anillo aromático. En la figura 45 se muestra de manera general este mecanismo y los intermediarios en la ruta primaria propuesta de la degradación del subsalicilato de bismuto por *Fusarium sp.*, se muestran en negrita. No se detectó actividad del catecol 2,3-dioxigenasa (Dodge & Wackett, 2005).

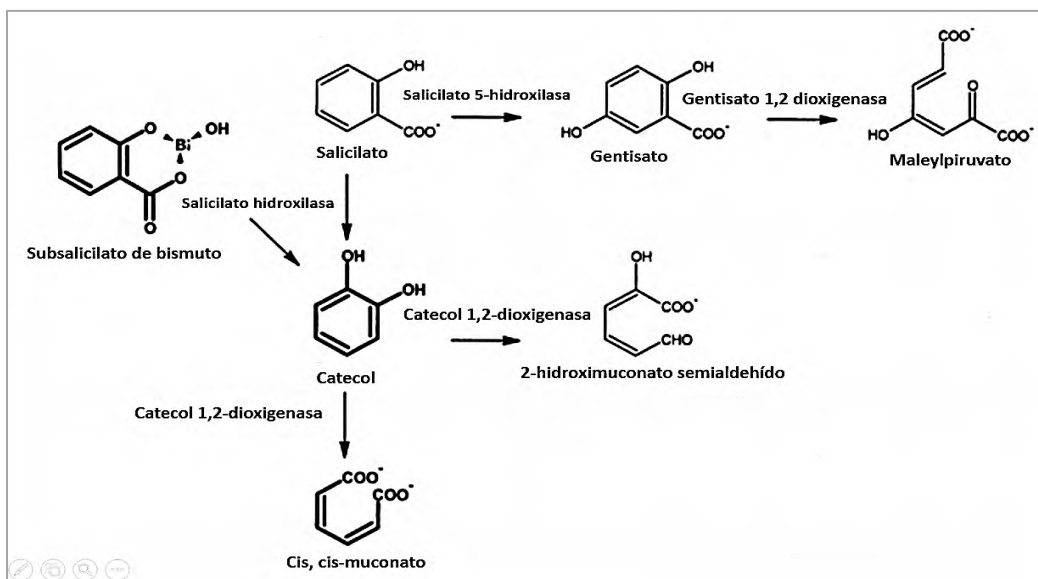


Figura 45. Vías conocidas para el catabolismo de salicilatos en hongos y/o bacterias (Dodge & Wackett, 2005).

Además, en este mismo estudio se informó que *Fusarium sp.*, también creció utilizando varios ácidos aromáticos como fuentes de carbono, entre estos: benzoato, 3-hidroxibenzoato, 4-hidroxibenzoato,

gentisato, D-mandelato, L-fenilalanina, L-tirosina, fenilacetato, 3-hidroxifenilacetato, 4-hidroxifenilacetato y fenilpropionato (Dodge & Wackett, 2005).

Esquivel-Viveros, A. y colaboradores en el año 2009, presentaron por primera vez un estudio de la biodegradación del compuesto hexafluorofosfato de 1-butyl-3-metilimidazol ([bmim][PF6]) por una cepa de *Fusarium sp.* Donde demostraron que *Fusarium sp.*, tiene la habilidad de tolerar y crecer hasta 19 y 21g de [bmim] [PF6] L⁻¹, respectivamente. El resultado fue la biodegradación del 80% de este compuesto sintético, después de 28 días de incubación a 30°C, usando un reactor de biopelícula aireado por membrana. El compuesto [bmim] [PF6] es un líquido iónico de imidazolio, considerado como un contaminante potencial de aguas residuales de industrias (Esquivel-Viveros *et al.*, 2009).

Estudios realizados por Felipe-Collado en la Universidad del Papaloapan, reportan el crecimiento de una cepa de *Fusarium* en una solución de degradado de PET, que creció a diferentes concentraciones del degradado y pH. Con sus resultados demostró que el hongo creció en todas las concentraciones utilizadas de degradado, 0.5, 1, 1.5, 2 y 2.5 % a pH 8, en donde la concentración de 1% presentó mayor crecimiento seguido de 2 y 2.5%, luego 1.5% y finalmente 0.5%. Posteriormente utilizando las mismas concentraciones, pero a pH 10, observó que creció en todas las concentraciones y que además en las concentraciones de 0.5 y 1.5, % presentaron mayor crecimiento seguido de 1 y 2% y finalmente 2.5 %. Después utilizando las mismas concentraciones, pero a pH 12, observó que creció en todas las concentraciones, donde tuvo mayor crecimiento en 1.5, % seguido de 0.5, 1, 2 y 2.5% (Felipe-Collado, 2022). En estos resultados se observa que el microorganismo al parecer asimila mejor el degradado de PET a pH básicos, además de soportar estas condiciones. Considerando lo reportado en la literatura y los estudios realizados en la Universidad del Papaloapan, *Fusarium* podría ser una buena alternativa para la biorremediación de sitios contaminados de hidrocarburos, plásticos y otros agentes tóxicos.

- ***Paecilomyces lilacinus***

Actualmente denominado *Purpureocillium lilacinum*, es un hongo filamentoso, produce un espeso micelio de donde se forman los conidióforos que producen las conidias y se caracterizan por tener conidióforos complejos. Sus hifas normalmente poseen una textura lisa y presentan un espesor entre 3 y 5 µm. A partir de estas estructuras se levantan sus conidióforos que pueden llegar a tener hasta 650 µm, los cuales producen conidias con carácter fusiforme. Este organismo pertenece a la división *Ascomycota*, clase *Sordariomycete*, familia *Ophiocordycipitaceae* y se clasifica dentro de la sección *Isarioidea* (Cañón, 2017; Dos Santos *et al.*, 2010; Luangsa-ard *et al.*, 2011; Samaniego, 2015). En la figura 46 a se observa la morfología del

crecimiento de colonias del cultivo de una cepa de *P. lilacinus* en agar papa dextrosa (PDA) y en la figura 46 b presenta hifas tienen fiálides con un gran número de conidias unidas sueltas en largas cadenas divergentes (Pau *et al.*, 2012).

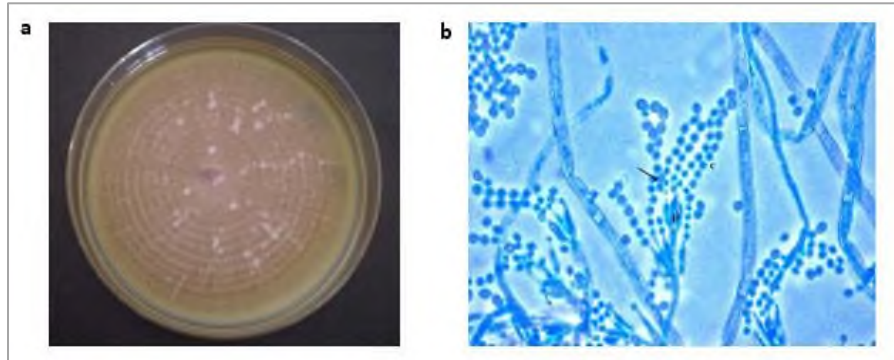


Figura 46. Características macroscópicas y microscópicas de *P. lilacinus* (Pau *et al.*, 2012).

En la figura 47 se muestra una imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) de *P. lilacinus* cultivado aeróbicamente (a y b) y anaeróbicamente (c y d), en escalas de barras, 10 μm (a y c) y 4 μm (b y d) (Pau *et al.*, 2012).

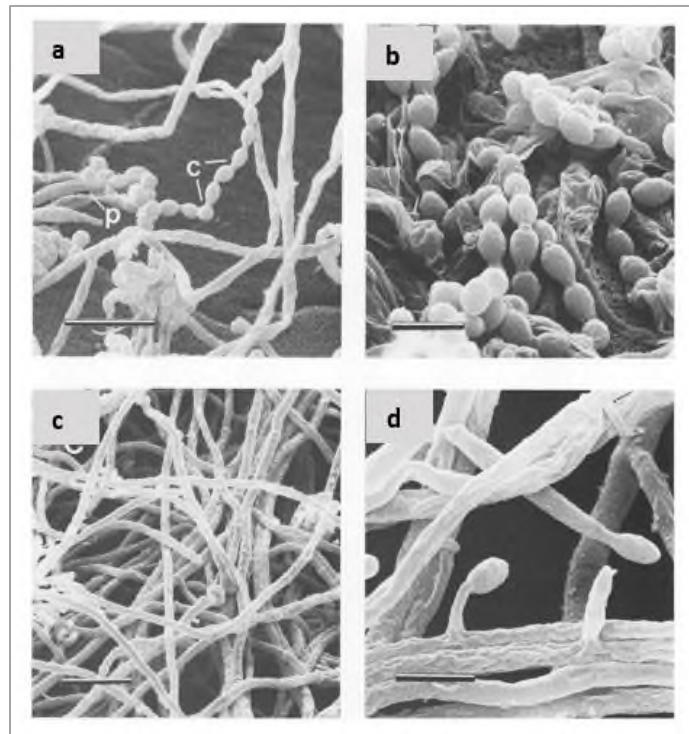


Figura 47. Morfología de *P. lilacinus* visto a través de microscopía electrónica de barrido (SEM) en condiciones aerobio y anaerobio (Douglas y Rhodes, 1991).

El crecimiento y desarrollo de *P. lilacinus* es posible entre las temperaturas de 8 a 38 °C, teniendo un crecimiento óptimo entre 26 y 30 °C. Se puede encontrar naturalmente en el suelo como saprófito, el aire y las plantas en descomposición, presentándose en una mayor concentración en suelos subtropicales y tropicales. También se ha encontrado en granos de alimentos. Es altamente adaptable por lo que puede llegar a ser entomopatógeno, micoparásito, saprófito o nematófago (Cañón, 2017; Dos Santos *et al.*, 2010; Samaniego, 2015). Fue encontrado por primera vez en 1966 en huevos de nematodos y posteriormente en Perú se observó, mediante diversas investigaciones, que pueden parasitar huevos de *Meloidogyne incognita* (Figura 48) (Cañón, 2017; SENASICA, 2017).



Figura 48. *Meloidogyne incognita* (SENASICA, 2017).

Dentro del área de la salud, representa un grave problema, debido a que frecuentemente se ha detectado como contaminante del aire en muestras clínicas y en soluciones estériles. Además, se ha observado que es resistente a la mayoría de las técnicas comerciales de esterilización (Dos Santos *et al.*, 2010; Luangsa-ard *et al.*, 2011). Diversos autores lo han reportado como patógeno y desde 1988 Padhye, reportó que *P. lilacinus* se encuentra entre las cepas más patógenas de este género en el hombre (Padhye, 1988; Schinabeck & Ghannoum, 2003). Actualmente es considerado un patógeno oportunista emergente en humanos, que afecta tanto a niños como adultos inmunocompetentes e inmunodeprimidos. Se ha reportado que causa infección localizada en pacientes inmunodeprimidos por traumatismo o implantación de prótesis quirúrgicas, principalmente lentes intraoculares (Dos Santos *et al.*, 2010; Luangsa-ard *et al.*, 2011).

En el 2010, estudios realizados por Dos Santos *et al.*, dieron a conocer que cuando el hongo invade el tejido, no solo produce hifas, sino que también puede producir formas adventicias, como fiálides y microconidias. La mayoría de las manifestaciones clínicas corresponden a oculomicosis e infecciones cutáneas y subcutáneas, aunque también se han reportado otros tipos de infección (Dos Santos *et al.*, 2010). Después en el 2011 Luangsa-ard *et al.*, informaron que las infecciones que se han presentado por *P.*

lilacinus en pacientes que toman fármacos inmunosupresores ocurren en cirugía de trasplante de hígado, riñones, médula ósea y corazón (Luangsa-ard *et al.*, 2011).

Luangsa-ard *et al.*, informaron también que la queratitis causada por *P. lilacinus* generalmente ocurre por invasión externa. Los factores predisponentes comunes son la queratopatía crónica, el trauma ambiental, la cirugía de implantes después de reemplazos de lentes y/o córnea y el uso prolongado de lentes de contacto (Luangsa-ard *et al.*, 2011). En los estudios reportados por Dos Santos *et al.*, informaron también que en el período 1964-2009 se registraron 129 casos de infecciones por *P. lilacinus*, con tres brotes y ocho casos de muerte. La mayoría de las infecciones por *P. lilacinus* ocurren ya sea de forma iatrogénica, que es cualquier condición física o mental adversa o desfavorable inducida en un paciente por efectos indeseables o lesivos del tratamiento como la quimioterapia, o en huéspedes inmunodeprimidos (Dos Santos *et al.*, 2010).

En el año 2013 Teles & Takahashi reportaron la producción de Paecilomida, un nuevo inhibidor de la acetilcolinesterasa por *P. lilacinus*. Por ello el hongo ha sido utilizado para la producción de metabolitos secundarios con actividad inhibidora de la acetilcolinesterasa (utilizados para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer) (Teles & Takahashi, 2013). En 2015, Samaniego reportó en sus estudios que *Paecilomyces lilacinus* presenta una alta actividad enzimática, especialmente en la producción de quitinas, proteasas y lipasas, que están altamente relacionadas con su patogenicidad. Por otro lado, se ha determinado la producción de leucinostatinas o paecilotoxinas, (nonapéptidos) como un factor importante de virulencia (Samaniego, 2015). Lo anterior resulta importante y se debe considerar para la elaboración de antifúngicos que lo contrarresten.

Como ya se había mencionado anteriormente, este microorganismo es un entomopatógeno que parasita varios nemátodos, que son plagas de distintos cultivos (como papa y tomate). Entre estos destacan los géneros *Meloidogyne*, *Radopholus*, *Pratylenchus*, *Heterodera* y *Globodeera* (Anastasiadis *et al.*, 2008; Carrión & Desgarenes, 2012; Samaniego, 2015). Aunque este hongo es más agresivo contra huevos de nemátodos también se ha visto que parasitan a nemátodos móviles y a hembras sedentarias. Las conidias de *P. lilacinus* parasitan los huevos y las hembras de los nematodos a través de la producción de enzimas líticas, causando de esta forma la destrucción de los ovarios de las hembras y la reducción de la eclosión de los huevos. También producir toxinas que afectan el sistema nervioso y deformación del estilete de los nematodos; ambos efectos pueden producirse simultáneamente y reducir sensiblemente los niveles poblacionales de los nematodos (Cañón, 2017). Por lo que nivel industrial *Paecilomyces lilacinus* es reconocido por ser un eficiente controlador biológico que parasita varios nemátodos que son plagas de

distintos cultivos. Por esta razón es que este hongo está siendo desarrollado comercialmente como un agente de control de plagas (Samaniego, 2015).

Estudios realizados en el 2013 por Zeng *et al.*, reportaron el uso de *P. lilacinus* como biorremediador del metal pesado cadmio (Zeng *et al.*, 2013). En el 2017 Xu *et al.*, reportaron la desintoxicación de cromato hexavalente mediante el cultivo de *P. lilacinus*. En sus resultados reportaron que redujo eficientemente más del 90% de Cr^{6+} en medios con una concentración de Cr^{6+} a 100 mg/L a pH 6. Además, ellos informaron que los mecanismos de *P. lilacinus* para metabolizar Cr^{6+} implican principalmente biotransformación, biosorción y bioacumulación de acuerdo con sus resultados obtenidos por microscopía electrónica y métodos químicos. Además, observaron que concentraciones bajas de Cr^{6+} (50 mg/L) estimularon las actividades de superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y el contenido de glutatión (GSH) en *P. lilacinus*. Pero a mayores concentraciones (150 mg/L) disminuyeron las actividades enzimáticas y la concentración de GST (Xu *et al.*, 2017). De acuerdo con estos resultados, las actividades enzimáticas SOD, CAT y GSH, representan los principales mecanismos de defensa que expresa *P. lilacinus* para contrarrestar los efectos tóxicos de este metal. Estudios realizados por Vázquez-Velasco de una cepa de *P. lilacinus* aislada a partir de aguas contaminadas del afluente Laguna Lindavista en la ciudad de Tuxtepec en el estado de Oaxaca, demostraron la resistencia a los metales pesados Pb, Cr y Cd por el hongo. Se vio que el microorganismo creció en presencia de Pb a concentraciones de 0.32 a 6.59 mM, Cr de 0.32 a 5.66 mM y Cd 0.32 a 6.59 mM. (Vázquez-Velasco, 2022). De acuerdo con estos resultados *P. lilacinus* resistió más la presencia de Pb y Cd con respecto a los demás metales, seguido de Cr. El hongo no pudo resistir ninguna de las concentraciones de mercurio utilizadas en este estudio. De acuerdo con la información anterior, podría ser que *P. lilacinus* representara una buena alternativa para la biorremediación sitios contaminados por metales pesados. Además, resulta más fiable su uso ya que se ha reportado cómo lleva a cabo mecanismos de resistencia contra estos.

▪ ***Penicillium citrinum***

Es un hongo filamentoso común, con distribución mundial y bien puede ser una de las formas de vida eucariotas más comunes en la tierra. Presenta micelio macrosifonado (2-4 μ m), septado y hialino; microconidios redondos que miden entre 1-3 μ m y conidióforos de 5-10 μ m de largo y esterigmas, que dependiendo de la especie fluctúan entre 3-6 μ m. La mayoría de las especies son mitospóricas, sin embargo, hay reportes de algunas formas ascosporadas. Sus cultivos son de color verde, con un halo

blanquecino en la periferia de forma y aspecto plana, polvosa, aterciopelada. La mayoría de cepas no presentan pigmentos solo algunas especies como *P. notatum* dan color café-ocre (Bonifaz, 2012). Se ha aislado de varios sustratos como suelo, cereales (tropicales), especias y ambientes interiores. Así como en sedimentos con altas concentraciones de sales, por lo que se les ha considerado como halotolerantes (Houbraken *et al.*, 2010; Lu *et al.*, 2008). En la figura 49 a se observa el cultivo de una cepa *P. citrinum* crecido en agar Sabouraud-Dextrosa (SAB) después de 14 días de incubación a 30°C y en la figura 49 b se muestra la imagen de su morfología en un microscopio óptico (40x) después de una tinción con azul de algodón, mostrando sus conidióforos y conidios que producen fiálides (Bonifaz, 2012; Fun, 2015).

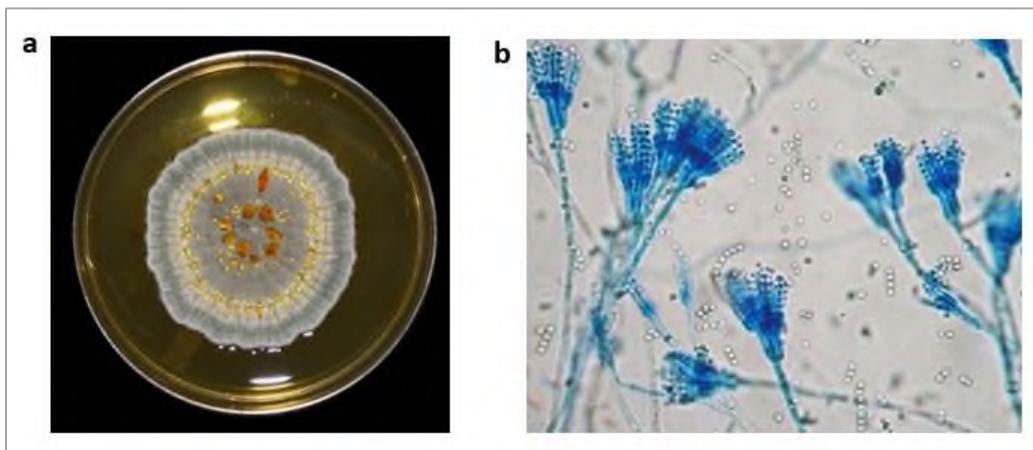


Figura 49. Características macroscópicas y microscópicas de *P. citrinum* (Bonifaz, 2012; Fun, 2015).

En la figura 50 a se observan colonias de *P. citrinum* (a) en CYA y MEA, después de 7 días a 25°C. En la figura 50 b y c se observa su penicilli (barras = 10 mm) y en la figura 50 d sus conidios (barra = 5 mm) a través de un microscopio electrónico de barrido (SEM, 3000x, 5000x) (Pitt *et al.*, 2009).

De acuerdo con estudios realizados por Fun, en el 2015, si bien las especies de *Penicillium* generalmente se consideran contaminantes de laboratorio o, en el mejor de los casos, oportunistas, se ha implicado a varias especies en el proceso de algunas enfermedades. Algunas especies de *Penicillium* pueden aislarse de muestras clínicas, pero se sabe que una verdadera infección solo puede establecerse mediante la demostración histológica de invasión de tejido. Teniendo esto en cuenta, *P. citrinum* se ha reportado en casos de queratitis micótica (ojo), infecciones pulmonares (neumonía), un solo caso de infección del tracto urinario (ITU) y uno de pericarditis. Pero se informa que su contribución al proceso de la enfermedad puede ser secundaria a una enfermedad subyacente adicional. Como ocurre con todos los hongos, las

personas inmunocomprometidas pueden tener un mayor riesgo de infección, incluidas aquellas que rara vez se consideran patógenas, como lo es en *P. citrinum* (Fun, 2015).

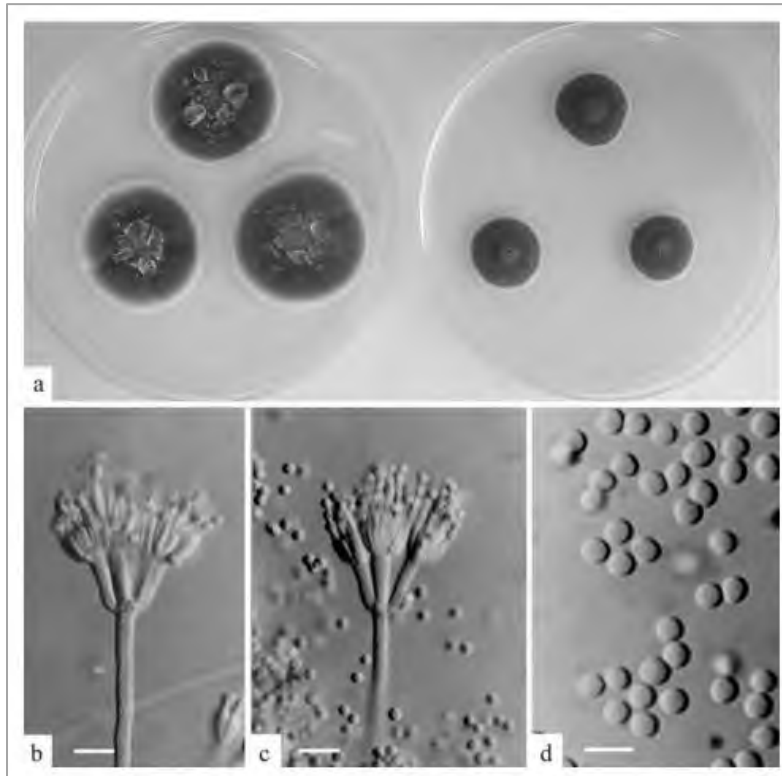


Figura 50. Morfología macroscópica y microscópica de *P. citrinum* visto a través del SEM (Pitt *et al.*, 2009).

En el 2017 Hesse *et al.*, reportaron el caso de un receptor de trasplante de células madre inmunodeprimido con síntomas respiratorios agudos y un cultivo de lavado broncoalveolar (BAL) donde creció *P. citrinum* en múltiples placas. El nivel de galactomanano (biopolímeros del tipo polisacárido formados por un esqueleto de manosa con ramificaciones formadas por unidades de galactosa) fue muy alto a pesar de frotis fúngicos negativos y sin aislamiento de *Aspergillus sp.*, ya que se ha reportado que varios hongos distintos de *Aspergillus* tienen reactividad cruzada con galactomanano, incluidas algunas cepas de *Fusarium sp.*, *Paecilomyces sp.* y *Penicillium sp.*, pero no de *P. citrinum*. Por lo que se reportaron los primeros datos que confirman la reactividad cruzada de galactomanano específicamente para *P. citrinum*, medida mediante un ensayo clínico validado (Hesse *et al.*, 2017). Además, diversos autores han reportado que produce efectos tóxicos en las células T humanas. Su metabolito secundario llamado citrinina posee actividad nefrotóxica, alterando las funciones renales de cerdos, aves y ratones, produciendo diarrea, degeneración renal y necrosis tubular del riñón. Se ha descrito su

capacidad de producir mutaciones, adenomas renales, alteraciones en las mitocondrias de riñón e hígado, en el sistema cardiovascular y en la inmunidad, como responsable de la disminución del hematocrito y del recuento de plaquetas en ratones, y como posible causa de síndrome hemorrágico en ganado bovino. También se ha reportado que, en animales este compuesto es teratogénico, embriocida, fetotóxico e inmunosupresor (Lurá *et al.*, 2001; Malmstrøm *et al.*, 2000; Mohamed *et al.*, 2013). Mohamed *et al.*, informaron que frecuentemente se ha detectado la citrinina en alimentos de consumo humano y animal, el cual produce la descomposición postcosecha en el almacenamiento de muchas frutas y verduras frescas (Mohamed *et al.*, 2013). En el caso de las plantas, en el 2017 Estrada *et al.*, reportaron el primer informe que involucra a *P. citrinum* como patógeno para los cítricos, resultado ser un patógeno endémico contra el limón persa (Estrada, *et al.*, 2017).

En 1993 Hosobuchi *et al.*, reportaron que *P. citrinum* es capaz de producir ML-236B, un inhibidor de la 3-hidroxi-3-metilglutarilCoA reductasa. Este compuesto se utiliza como sustrato para la hidroxilación microbiana para producir pravastatina, una sustancia que reduce el nivel del colesterol (Hosobuchi *et al.*, 1993). De aquí la importancia del uso de *P. citrinum* para la producción de metabolitos de interés para la salud humana. Además, en el 2006 Wakana *et al.*, reportaron que compuestos derivados de citrinina aislados de *P. citrinum*, presentan actividad antifúngica contra otros microorganismos patógenos como *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans* (Wakana *et al.*, 2006). Mientras que en el 2008 Lu *et al.*, reportaron que en plantas *P. citrinum* es capaz de producir metabolitos, como las giberelinas, que favorecen el crecimiento vegetal (Lu *et al.*, 2008). Mientras que en el 2012 y 2013 Honary *et al.*, reportaron la producción extracelular de nanopartículas de plata (AgNP) y cobre (CuNP), sintetizadas y estabilizadas por *P. citrinum*. Dichas partículas se produjeron de forma bastante uniforme con una estructura esférica determinada por microscopio electrónico de barrido (SEM) (Honary *et al.*, 2012; Honary *et al.*, 2013). Lo anterior tiene importancia en la industria de los materiales.

Los organofosfonatos son compuestos orgánicos de fósforo que contienen un enlace carbono-fósforo (C-P). El enlace C-P es resistente a la degradación química, ya sea hidrolítica, térmica o fotoquímica. Sin embargo, en 1992 Zboinsk *et al.*, reportaron un estudio de *P. citrinum* utilizando organofosfonatos como única fuente de fósforo, carbono y nitrógeno y descubrieron que *P. citrinum* utiliza los ácidos 2-aminoetilfosfónicos y 2-oxoalquilfosfónicos como única fuente de fósforo, mientras que los 1-hidroalquilfosfonatos, así como los 1-aminoalquilfosfonatos y sus dipéptidos no ayudan en su crecimiento. Se ha reportado la utilización de *P. citrinum* para la micorremediación como una estrategia viable para el saneamiento de suelos contaminados con crudo o hidrocarburos (Zboinsk *et al.* 1992). En 2011, estudios realizados por Pang *et al.*, reportaron la capacidad de la biomasa muerta de *P. citrinum* para la

eliminación y recuperación de uranio de soluciones acuosas. En este caso *P. citrinum* ha presentado un gran potencial como biosorbente para eliminar iones de uranio de soluciones acuosas (Pang *et al.*, 2011).

Vázquez-Velasco estudió la resistencia a metales pesados en una cepa de *P. citrinum* aislada en el afluente contaminado conocido como Arroyo San Jacinto, localizado en la ciudad de Tuxtepec, Oaxaca. Los resultados indicaron la resistencia a los metales pesados Pb, Cr y Cd. Se observó que el hongo creció en presencia de Pb a concentraciones de 0.32 a 1.95 mM, Cr de 0.32 a 6.59 mM y Cd solo creció en la concentración 0.32 mM (Vázquez-Velasco, 2022). De acuerdo con estos resultados *P. citrinum* resistió más la presencia de Cr con respecto a los demás metales, seguido de Pb y finalmente Cd. Lo anterior puede sugerir que *P. citrinum*, al igual que varios de los hongos estudiados en este trabajo, podría resultar un buen candidato para la biorremediación de sitios contaminados por metales pesados.

- ***Talaromyces sp.***

En 1955 el micólogo estadounidense Chester Ray Benjamín, introdujo el género *Talaromyces sp.*, para especies teleomórficas de *Penicillium* con *Talaromyces vermiculatus* como tipo genérico. Las especies del género se caracterizan por formar ascocarpos blandos (cuerpos frutales suaves y algodonosos) con una pared cleistotecial de hifas entrelazadas y ascosomas típicamente amarillos, con ascos ovados a globosos que contienen principalmente ascosporas espinosas. En la figura 46 se observa la morfología colonial y microscópica de una cepa de *T. xishaensis*. En esta figura se pueden observar las colonias en la fila superior de izquierda a derecha, colonias de *T. xishaensis* crecidas en agar autolisado de levadura Czapek (CYA), agar de extracto de malta (MEA), agar de extracto de levadura (YES) y agar de Czapek (CZ); de forma anversa en la fila inferior de izquierda a derecha, colonias crecidas CYA, MEA, YES y CZ, de forma inversa (Figura 46 a); y se observan también sus conidióforos (Figura 46 b-d) y conidios (Figura 46 e) a través de un microscopio electrónico de barrido (Wang *et al.*, 2016).

Stolk y Samson (1971) introdujeron *Hamigera*, un grupo para clasificar las especies de *Talaromyces* que producen ascos individuales, limitando *Talaromyces* a las especies que producen ascos en cadenas. Aunque Pitt (1980) consideró a *Hamigera* sinónimo de *Talaromyces*, Houbraeken y Samson (2011) demostraron que es un género distinto estrechamente relacionado con *Warcupiella*. Más tarde se demostró que las especies termófilas de *Talaromyces* son distintas de *Talaromyces* y se clasificaron en el nuevo género *Rasamsonia* y *Thermomyces* (Jiang *et al.*, 2018; Yilmaz *et al.*, 2014). Dentro de este género *T. marneffeii* es la única especie dimórfica conocida del género, que produce un crecimiento filamentoso a

25°C y una fase de levadura a 37°C (Yilmaz *et al.*, 2014). Es un género ubicuo que se encuentra en ecosistemas terrestres y marinos, incluidos sedimentos de estuarios, marismas, humedales de manglares y sedimentos de aguas profundas (Dewapriya *et al.*, 2017).

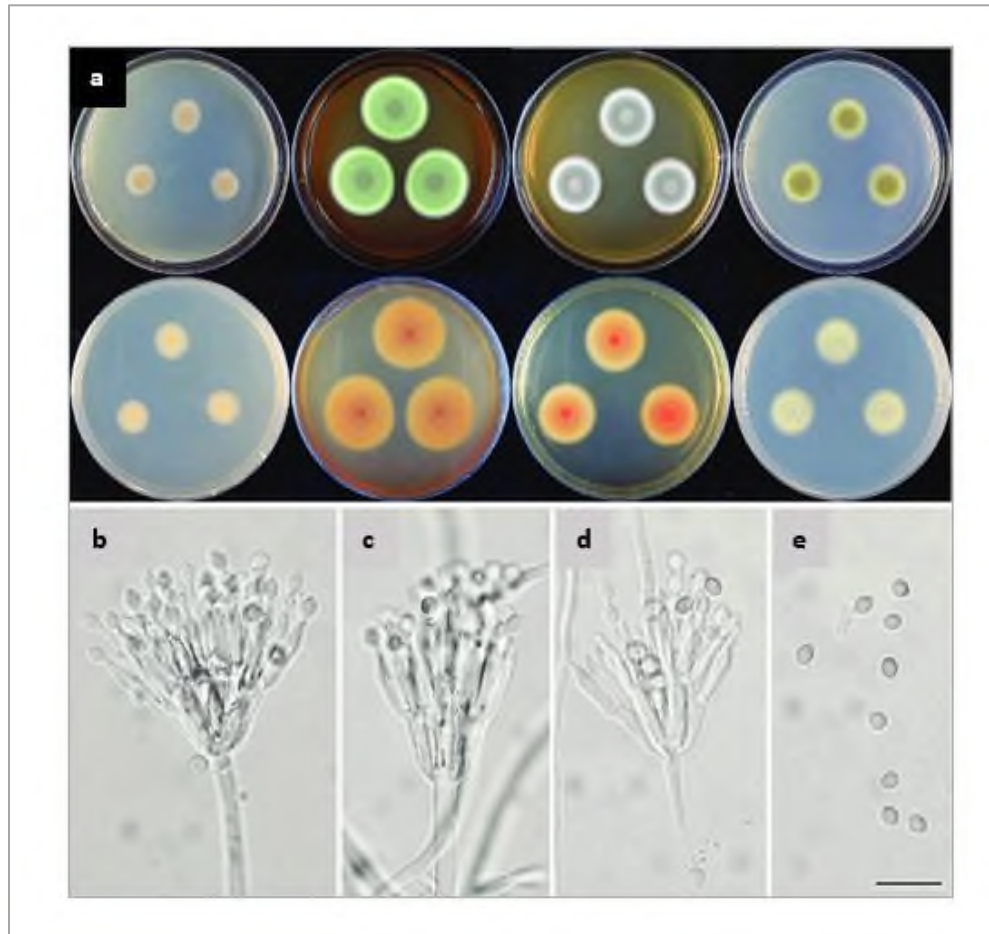


Figura 51. Morfología colonial y microscópica de *T. xishaensis* (Wang *et al.*, 2016).

Dentro del área de la salud algunas especies de este género son consideradas patógenos en humanos y animales. Dentro de los cuales y acuerdo con estudios realizados en el 2014 por Yilmaz *et al.*, *T. marneffeii* es considerado como patógeno emergente que puede causar una micosis fatal generalmente en individuos inmunodeprimidos, reportándose principalmente en países del este de Asia como China, Taiwán, Tailandia y Vietnam. Debido a que *T. marneffeii* solía clasificarse como *Penicillium*, la enfermedad con la que se le asocia, todavía se conoce como *peniciliosis*. Otras especies de *Talaromyces* de importancia médica son por ejemplo, *T. indigoticus* que se ha aislado de lesiones de piel y uñas en un hombre afectado por onicomycosis en el oeste de Panamá; *T. piceus* quién causó fungaemia y osteomielitis costal en un paciente con enfermedad granulomatosa crónica ligada al cromosoma X (X-CGD); *T. radicus* que originó

una infección fatal en un perro pastor alemán; *T. helicus* quien fue causante de linfadenitis granulomatosa en un labrador retriever. *T. amestolkiae* y *T. stollii* se aislaron de los pulmones y el esputo de pacientes inmunodeprimidos (Yilmaz *et al.*, 2014). Dentro de la literatura se ha reportado que algunas especies producen una gran variedad de micotoxinas en productos alimenticios. *Talaromyces purpurogenus* produce varias micotoxinas, entre estas rubratoxinas, luteosquirina, ácido espiculispórico y rugulovasinas. El primer reporte de rubratoxicosis humana se presentó en tres adolescentes que bebían vino de ruibarbo casero, el cual contenía un alto nivel de rubratoxina B, enfermándose gravemente, uno de ellos requirió un trasplante de hígado inmediato. En varios animales se ha reportado que la rubratoxina B es mutagénica, hepatotóxica, nefrotóxica y esplenotóxica. Aunque la rubratoxina B tiene efectos negativos para la salud, tiene potencial como agente antitumoral (Yilmaz *et al.*, 2012; Yilmaz *et al.*, 2014). *Talaromyces islandicus* es considerado uno de los hongos más destructivo y dañino que afecta el arroz almacenado, provocando el amarilleo de este. Produce también micotoxinas, como cicloclorotina, islanditoxina, eritrosquirina y luteosquirina, que son agentes hepatotóxicos y cancerígenos. Especies como *T. islandicus*, *T. radicus*, *T. rugulosus* y *T. wortmannii* producen rugulosina y skyrin. La rugulosina es un pigmento bis-antraquinoides con un efecto antibacteriano específico contra *Staphylococcus aureus*, además de mostrar ser moderadamente activo contra *Pythium*. Sin embargo, estudios han demostrado que la rugulosina también podría ser un hepatocarcinógeno. Aunque se han clasificado como micotoxinas, también se ha informado que las extrolitas como la eritrosquirina son agentes antitumorales (Yilmaz *et al.*, 2014).

En el 2014 Yilmaz *et al.*, informaron que *T. macrosporus*, *T. flavus*, *T. bacillisporus*, *T. helicus*, *T. stipitatus*, *T. trachyspermus* y *T. wortmannii*, producen ascosporas resistentes al calor, causando el deterioro de jugos pasteurizados y otros productos a base de frutas (Yilmaz *et al.*, 2014). Algo que resulta desfavorable para las industrias alimenticias, ya que debido a esta capacidad que presenta el microorganismo, es difícil erradicarlo en la contaminación de los alimentos.

A nivel industrial *Talaromyces sp.*, es utilizado en la producción de enzimas como β -rutosidasa y fosfatasa (*T. rugulosus*), endoglucanasa y celulasa (*T. pinophilus*), entre otros, y pigmentos de policétido de azafilona como las mitorubrininas y los pigmentos rojos de *Monascus* para fines biotecnológicos (Yilmaz *et al.*, 2014). Las especies de *Talaromyces* producen pigmentos entre los cuales destacan amarillos, naranjas y rojos en el micelio o como pigmentos difusos. Los pigmentos de policétido de azafilona como las mitorubrininas (mitorubrina, mitorubrinol, acetato de mitorubrinol y ácido mitorubrinico) y los pigmentos rojos de *Monascus* (N-glutaril monascorubramina, N-glutarilrubropunctamina, monascorubramina, monascina, PP-R y otros), son responsables de los pigmentos rojos en este género, y se producen en diferentes proporciones y cantidades entre diferentes aislamientos y especies. *Talaromyces*

purpurogenus, *T. marneffeii*, *T. albobiverticillius*, *T. minioluteus* y *T. atroroseus*, son las principales especies que producen grandes volúmenes de mitorubrin. Pero solo *T. atroroseus* produce consistentemente las familias biosintéticas de azafilona, mitorubrin y pigmentos Monascus sin micotoxinas y, por lo tanto, puede usarse para la producción biotecnológica de estos pigmentos (Yilmaz *et al.*, 2014). Estudios realizados en el 2014 por Zhai *et al.*, reportaron que los metabolitos secundarios del género *Talaromyces sp.*, incluyen principalmente alcaloides, péptidos, lactonas, policétidos y compuestos de tipo de estructura miscelánea. *Talaromyces flavus*, un microorganismo notable por sus metabolitos secundarios con actividades biológicas únicas, es la especie más común del género *Talaromyces* (Zhai *et al.*, 2016).

Por su composición enzimática, estos microorganismos son aplicables en el área de la biotecnología en la síntesis de sacáridos, preparación de bloques de construcción quirales o biotransformaciones, y por su aplicación en el biocontrol de plagas (Zhai *et al.*, 2016). Yilmaz informó que *Talaromyces flavus* es uno de los antagonistas fúngicos más importantes que se utilizan como agentes de biocontrol de patógenos del suelo como *Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Se ha demostrado que *Verticillium* suprime el marchitamiento de tomate, berenjena, papa, algodón y pepino verde de la casa (Yilmaz *et al.*, 2014).

Además, dentro del área ambiental la especie *T. pinophilusstrain*, produce enzimas que son capaces de degradar desechos agrícolas. Se ha reportado que *Talaromyces sp.*, es capaz de producir biosurfactanos, pudiendo así degradar compuestos de hidrocarburos en los residuos de lodos de petróleo. Los lodos de petróleo son uno de los residuos peligrosos producidos por la industria del petróleo y están categorizados como residuos peligrosos y tóxicos de categoría 1.

En el 2006 Romero realizó el estudio de la biosorción de metales pesados por *T. helicus*, que con anterioridad ya se había reportado que es capaz de llevar a cabo la desintoxicación del cobre (Cu) y bifenilo. Dentro de sus resultados obtuvieron que fue capaz de tolerar concentraciones de hasta 400 ppm de Cu, Cd y Pb (Romero, 2006). Recientemente en el 2019 Nam *et al.*, realizaron un estudio sobre la eliminación del arsénico (Ar) en áreas contaminadas por este agente tóxico utilizando una cepa de *Talaromyces*, que fue aislado de suelos mineros. Dentro de sus resultados observaron que *Talaromyces* era altamente resistente al arsénico, tolerando concentraciones de hasta 1000 mg/L. Además, observaron un fuerte crecimiento del micelio en caldo de papa dextrosa que contenía As (III) y As (V), y no hubo diferencia en el crecimiento entre el medio libre de arsénico y el medio enmendado con hasta 300 mg/L de cualquiera de las especies de arsénico (Nam *et al.*, 2019).

Felipe-Collado en la Universidad del Papaloapan, trabajó con una cepa de *Fusarium* aislada de una solución de degradado de PET, observando que esta creció a diferentes concentraciones del degradado y

a diferentes pH. Dentro de sus resultados pudo constatar que el hongo creció en las concentraciones de 0.5, 1, y 1.5 % a pH 8, en donde la concentración de 0.5% presento mayor crecimiento seguido de 1 y después 1.5%. Posteriormente utilizando concentraciones de 0.05, 0.10, 0.30 y 0.50 %, pero a pH 10, observo que creció en todos y que además en las concentraciones de 0.05 y 0.10 % presentaron mayor crecimiento seguido de 0.30 % y finalmente 0.5 %. Después utilizando las mismas concentraciones a pH 12, observó crecimiento en todas las concentraciones, observando mayor crecimiento en 0.05 %, seguido de 0.10, 0.30 y 0.5%. Considerando lo reportado en la literatura *Fusarium* es buena alternativa para la biorremediación de sitios contaminados de metales pesados, plásticos y otros agentes tóxicos.

A manera de resumen.

A continuación, se realizó un resumen de la clasificación de la información recopilada en este trabajo de investigación bibliográfica. Los microorganismos fueron clasificados dependiendo de tres características: patología en humanos; patología en animales y plantas; su capacidad para adaptarse a diferentes contaminantes y los que poseen propiedad de síntesis de metabolitos con funciones industriales.

- **Características de los microorganismos aislados de ambientes contaminados.**

La tabla 7, muestra un resumen de la información que se logró obtener al realizar la investigación bibliográfica de todos los microorganismos mencionados. En ella se puede ver que las tres bacterias, las dos levaduras y los siete hongos poseen importancia dentro del área de la salud, al poseer mayor o menor patogenicidad en humanos. Algunos de ellos, especialmente los hongos, resultan patógenos para varios animales y plantas, lo cual hace que su importancia ya no sea solo médica sino también dentro del campo de los alimentos y de la agricultura. En las dos áreas mencionadas anteriormente, no todos los microorganismos cobran la misma importancia al compararse con su relevancia dentro de la medicina.

Los estudios que se han realizado en el laboratorio de Bioquímica de UNPA-Campus Tuxtepec, se relacionan con los efectos que algunos contaminantes como los metales pesados y los plásticos tienen sobre los organismos vivos. En relación con ello, al llevar a cabo la revisión bibliográfica, se pudo comprobar que no solo tienen esas propiedades, sino que también son capaces de crecer en presencia de diversos contaminantes como compuestos orgánicos, petróleo, aceites, entre otros, y bajo diferentes condiciones ambientales. Es por ello que el 100% de los microorganismos analizados tienen ingerencia en el área ambiental. Muchas de estas propiedades se deben a la síntesis de compuestos de diferente composición, entre los cuales se pueden mencionar enzimas, proteínas, pigmentos y compuestos antioxidantes; así como la expresión de diversos componentes genéticos que ayudan a que muchos microorganismos puedan resistir las condiciones ambientales adversas a las que se pueden enfrentar. Esto es importante dentro del área farmacéutica, médica y bioquímica. Además, toda la información recaudada podrá ser utilizada dentro de los proyectos que se llevan a cabo dentro del equipo de investigación de los laboratorios de Bioquímica y Microbiología en la UNPA-Campus Tuxtepec. De la misma forma podrán ser utilizados por diferentes grupos a los cuales les interese trabajar en alguna de las áreas relacionadas con estos microorganismos y sus posibles aplicaciones en algunas de las industrias mencionadas anteriormente, o, en su caso dentro del área de la investigación básica.

Tabla 7. Características de los microorganismos implicados en esta investigación.

Microorganismo	Importancia médica	Patogenicidad	Importancia farmacéutica	Importancia alimentaria	Importancia en la agricultura	Importancia ambiental
<i>Hafnia alvei</i>	Si	Si	Si	Si	No	Si
<i>Bacillus pumilus</i>	Si	Si	No	Si	Si	Si
<i>Pseudomona aeuroginosa</i>	Si	Si	Si	No	Si	Si
<i>Cándida parapsilosis</i>	Si	Si	Si	No	No	Si
<i>Rhodotorula</i>	Si	Si	Si	Si	Si	Si
<i>Acremonium</i>	Si	Si	Si	No	Si	Si
<i>Aspergillus flavus</i>	Si	Si	Si	No	Si	Si
<i>Aspergillus niger</i>	Si	Si	Si	Si	Si	Si
<i>Fusarium</i>	Si	Si	Si	No	No	Si
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Si	Si	No	No	Si	Si
<i>Penicillium citrinum</i>	Si	Si	Si	No	No	Si
<i>Talaromyces</i>	Si	Si	Si	No	Si	Si

Las tablas siguientes incluyen la importancia médica, la capacidad patogénica en humanos, animales y plantas; su importancia farmacéutica, la cual incluye resistencia a antibióticos o la capacidad de sintetizar estas moléculas y algunos metabolitos secundarios diferentes; la importancia en las industrias de los alimentos, la agricultura, así como su importancia ambiental, la cual incluye resistencia a contaminantes, factores ambientales y metales pesados.

- **Microorganismos que resultan patógenos a los humanos.**

Derivado de la investigación llevada a cabo en este trabajo se pudo constatar que todos los microorganismos estudiados (tres bacterias, dos levaduras y siete hongos) resultan patógenos para el ser humano. Esta patología varía en función del microorganismo. No se puede evaluar que tipo de microorganismo resulta más dañino en humanos, animales o plantas ya que los daños que se reportan están sujetos a factores como sexo, edad, estado nutricional, factores genéticos y factores medioambientales. La tabla 8 resume los daños que pueden ocasionar las especies investigadas.

Tabla 8. Patologías que generan los microorganismos en el ser humano.

Microorganismos		Enfermedades	Organos afectados
Bacterias	<i>Hafnia alvei</i>	Bacteriemia, septicemia, urosepsis, colecistitis gangrenosa, neumonía, endoftalmítis, en articulaciones, enfermedades respiratorias, de heridas nosocomiales, del tracto urinario, síndrome urémico hemolítico y meningitis	Riñones Articulaciones Pulmones Cerebro
	<i>Bacillus pumilus</i>	Infecciones cutáneas, bacteriemia potencialmente mortal, infección al torrente sanguíneo, síndromes eméticos y diarreogénicas inducidos por toxinas.	Piel, sistema inmunológico.
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Neumonías, infecciones del tracto urinario y bacteriemias.	Pulmones, riñones, torrente sanguíneo.
Levaduras	<i>Candida parapsilosis</i>	Candidemia, endocarditis, meningitis, peritonitis, artritis, fungemia, pancreatitis (principalmente necrosis y abscesos pancreáticos), endoftalmítis, otomicosis, onicomycosis y vulvovaginitis.	Pulmones, riñones, torrente sanguíneo.
	<i>Rhodotorula</i>	Infecciones sistémicas, oculares y peritonitis, meningitis y enendofamitis.	Piel y ojos.
Hongos	<i>Acremonium</i>	Infección subcutánea e invasivo y micosis, artritis, osteomielitis, peritonitis, endocarditis, neumonía, cerebritis e infecciones oculares.	Piel, tejidos, huesos, ojos.
	<i>Talaromyces</i>	Micosis fatal, osteomielitis, infección pulmonar.	Pulmones y piel.
	<i>Aspergillus niger</i>	Aspergilosis pulmonar, infección cutánea y otomicosis.	Pulmones, piel y oído.
	<i>Fusarium</i>	Queratitis, onicomycosis y fusariosis.	Piel y sistema digestivo
	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Infección cutánea y oculares. Así como infecciones por trasplante de órganos.	Piel, ojos, hígado, riñón, médula ósea y corazón.
	<i>Penicillium citrinum</i>	Neumonía, ueratitis micótica, Infección cutánea y tejidos.	Piel, pulmones y ojos.
	<i>Aspergillus flavus</i>	Asma extrínseca, alveolitis alérgica extrínseca y aspergilosis broncopulmonar alérgica, infecciones nosocomiales, supresión inmunológica, retraso del crecimiento y cáncer de hígado.	Tejidos hígado, riñones, pulmones, sistema inmunológico y endócrino.

Las bacterias pueden dañar en mayor o menor grado a los pulmones, los riñones, las articulaciones, el cerebro, la piel, el sistema inmune y el sistema sanguíneo. Tienen en común que pueden causar bacteremia, las tres son bacilos y fueron aisladas de afluentes contaminados. Las dos levaduras descritas en este trabajo ocasionan daños en los pulmones, los riñones, los ojos, así como al tejido sanguíneo y a la

piel. Estas fueron aisladas tanto de un afluente contaminado como de una solución de degradado de PET. Finalmente, los hongos descritos en este trabajo resultaron ser los microorganismos que ocasionan más daños a una gran variedad de órganos y sistemas humanos como hueso, medula ósea, pulmones, corazón, hígado, riñones, ojos, oídos, y los sistemas inmune, digestivo, epitelial y endócrino. Estos microorganismos pueden ocasionar desde una micosis leve hasta una micosis fatal. Los hongos fueron aislados de igual forma que las levaduras de afluentes contaminados y de un degradado alcalino de PET. La tabla 8 muestra lo anterior y detalla el tipo de enfermedades ocasionadas por cada microorganismo.

- **Microorganismos que resultan patógenos para animales y plantas.**

La tabla 9 muestra la información recopilada en relación con el impacto de bacterias y hongos en el bienestar de animales y plantas. Es de notarse que las levaduras no se han reportado como agentes nocivos para estos organismos hasta el presente.

Tabla 9. Microorganismos que ocasionan daño a animales y plantas

Microorganismos		Animales	Plantas
Bacterias	<i>Hafnia alvei</i>	Abortos (yeguas), infección cutánea (ovejas), mastitis crónica (vaca), septicemia (aves de corral y aves), y septicemia hemorrágica (peces).	
	<i>Bacillus pumilus</i>	Enterocolitis (roedores).	Muerte regresiva en las hojas y ramas (jengibre y mango).
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Patogeno en <i>Caenorhabditis elegans</i> , <i>Drosophila</i> y <i>Galleria mellonella</i> .	Putrefacción en las raíces (berro, albahaca dulce y lechuga).
Hongos	<i>Acremonium</i>	Infección cutánea (búfalos y caimanes), queratoconjuntivitis, micetomas e infecciones sistémicas (perros) y abortos (bovinos)	Pudrición de cultivos como maíz y frutas.
	<i>Talaromyces</i>	Infección cutánea (animales domésticos).	Pudrición de cultivos como maíz.
	<i>Aspergillus niger</i>		Pudrición de cultivos como maíz, cacahuets, cebollas, mangos y manzanas
	<i>Fusarium</i>	Fusariosis animal (animales de granja)	Fusariosis vegetal (arroz, tomate, plátano, trigo, cebada, sorgo y maíz).
	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Queratitis, culomicosis e infecciones cutáneas y subcutáneas.	
	<i>Penicillium citrinum</i>	Daños en cerdos, aves y ratones.	Descomposición postcosecha en el almacenamiento de muchas frutas y verduras
	<i>Aspergillus flavus</i>	Tumores en el hígado, riñones y pulmones de varios animales.	Pudrición de la mazorca, maní, semillas de algodón.

En este caso solo las bacterias y los hongos fueron los que presentaron la capacidad de ocasionar diversas patologías en animales y plantas. En el caso de los animales las tres bacterias ocasionan daño a mamíferos, nematodos, insectos, reptiles y aves. Entre los efectos que se han reportado se encuentran daños en los procesos de reproducción, en el aparato digestivo y originan una gran diversidad de infecciones cutáneas. De la misma forma seis de los siete hongos pueden ocasionar perturbaciones en mamíferos, reptiles y aves donde pueden originar principalmente afecciones cutáneas. En el caso de las plantas, dos de las bacterias pueden ocasionar necrosis de raíces, ramas, hojas y frutos de varias especies entre ellas jengibre, lechuga y maíz. Seis de los hongos estudiados presentan daños a la integridad de una gran diversidad de plantas entre ellas frutos, semillas y vegetales, por lo cual representan un grave problema dentro de la industria alimenticia. Es por esta razón que se han implementado medidas como la síntesis de nuevos compuestos con propiedades antifúngicas. Sin embargo, estos a lo largo del tiempo ocasionarán daños al medio ambiente, provocando el aumento de los problemas de contaminación.

- **Microorganismos que pueden adaptarse a condiciones ambientales desfavorables.**

En los dos apartados anteriores se ha resumido la capacidad que los microorganismos implicados en este estudio tienen para ocasionar diversas patologías a humanos, animales y plantas. Sin embargo, es tan grande el universo de estos organismos microscópicos que resultaría ilógico pensar que solo pueden ocasionar enfermedades. Estos mismos organismos pueden ayudar a reestablecer el orden ambiental debido a que cuentan con la maquinaria necesaria para adaptarse a diversas condiciones ambientales (naturales y provocadas por el humano). Esta propiedad los convierte en sistemas de estudios muy interesantes e importantes para varias ramas de la ciencia. Una de ellas es la que podría explicar cómo hacen las bacterias, las levaduras y los hongos para establecer mecanismos de resistencia y de acción que los ayuden a sobrevivir a las condiciones adversas a las que se pueden enfrentar. Muchas de las aplicaciones derivadas de las características que poseen se relacionan con procesos de biorremediación.

La tabla 10 muestra la compilación de datos relacionados con este tema que fueron resultado de la investigación bibliográfica llevada a cabo.

Las tres bacterias tienen potencial como biorremediadores de aguas residuales y metales pesados. Un caso muy especial lo constituye *Bacillus pumilus* quien tiene capacidad de absorber y metabolizar a un isótopo de estroncio. De la misma manera *Pseudomonas aeruginosa* puede degradar hidrocarburos.

En el caso de las levaduras, ambas pueden ser utilizadas en la remoción de metales pesados y, en el caso de *Rhodotorula sp.*, desechos radioactivos. Los hongos tienen acciones como bioremediadores de metales

pesados, hidrocarburos, compuestos fenólicos y tintes. *Acremonium sp.*, *Talaromyces sp.*, y *Fusarium sp.*, además de poseer algunas de las capacidades citadas anteriormente, puede crecer en medio básicos de degradados químicos de polietilentereftalato (componente de las botellas de plástico conocido como PET) bajo condiciones experimentales. Esta propiedad puede generar una amplia gama de procedimientos experimentales que ayuden a verificar si podrían ser microorganismos que degradaran PET u otros plásticos en su forma comercial. Por otro lado, *Penicillium citrinum*, presenta la capacidad de tolerar la presencia de desechos de compuestos radioactivos.

Tabla 10. Microorganismos que contrarrestan problemas ambientales.

Microorganismos		Aplicaciones ambientales
Bacterias	<i>Hafnia alvei</i>	Como biorremediador de aguas residuales de industrias con metales pesados y otros agentes tóxicos.
	<i>Bacillus pumilus</i>	Biorremediador de metales pesados en aguas residuales, y en aguas subterráneas eliminan agentes tóxicos como fenol y cresol. En el suelo se utiliza para la biosorción de radionúclido de estroncio (Sr^{2+})
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Para la biorremediación de metales pesados y la biodegradación de hidrocarburos en el agua y suelo.
Levaduras	<i>Candida parapsilosis</i>	En la biorremediación de metales pesados.
	<i>Rhodotorula sp.</i>	Para la biorremediación de metales pesados, hidrocarburos y desechos radioactivos ácidos en suelo.
Hongos	<i>Acremonium sp.</i>	Para la biorremediación de metales pesados y degradados de PET
	<i>Talaromyces sp.</i>	Para la biorremediación de metales pesados y degradados de PET
	<i>Aspergillus niger</i>	Biorremediador de aguas residuales con metales pesados y otros agentes tóxicos como los tintes utilizados en la industria textil en el agua y suelo.
	<i>Fusarium sp.</i>	Para la biorremediación de metales pesados, la biodegradación de compuestos fenólicos, compuesto hexafluorofosfato y degradados de PET
	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Para la biorremediación de metales pesados
	<i>Penicillium citrinum</i>	Para la biorremediación de hidrocarburos en agua y suelo, y compuestos radioactivos en suelos.
	<i>Aspergillus flavus</i>	Para la biorremediación de metales pesados

- **Microorganismos productores de metabolitos incidentes en la salud y la industria.**

La tabla 11 muestra que algunos de los microorganismos estudiados en este trabajo no producen metabolitos. Sin embargo, lo que podría estar sucediendo es que, hasta el momento, no se hayan detectado, ya que varios de estos organismos poseen propiedades de resisitencia y sobrevivencia que sugieren algún mecanismo de acción.

Los mecanismos de acción para protección de las condiciones ambientales en los microorganismos se relacionan con la expresión de proteínas con actividad enzimática, mismas que resultan las responsables de desencadenar los fenómenos de adaptación. De la misma manera se han detectado metabolitos secundarios que, aun cuando no tienen propiedades de defensa contra agentes contaminantes de tipo antropogénico, sirven para otras actividades la defensa contra agentes biológicos. Estas sustancias son conocidas como antimicrobianos y en la tabla se muestran algunos de los que han sido detectados.

Por otro lado, un segundo grupo de metabolitos se relacionan con moléculas de interés industrial y que sirven como compuestos que ayudan a las industrias de alimentos (como la vainillina y el ácido cítrico, entre otros), textil (enzimas hidrolíticas), cosmetológica (proteasas y lipasas), agrícola (celulasas) y farmacéutica (serín proteasas, fosfatasas, fosfolipasas). Muchos de estos compuestos son enzimas que tienen acción de hidrolasas, es decir, proteínas que pueden romper polímeros de macromoléculas para generar monómeros o dímeros que posteriormente podrán ser utilizados en diversos procesos implicados dentro de las áreas antes mencionadas. De la misma forma las ciencias experimentales obtienen beneficios de los microorganismos ya que algunos de ellos resultan fuentes de enzimas que se requieren para llevar a cabo diversas actividades experimentales dentro de las áreas aplicadas y básicas.

Finalmente, algunos de estos microorganismos poseen la capacidad de producir compuestos con capacidades antioxidantes. En la actualidad, el daño oxidativo se encuentra de moda debido al alza de los niveles de contaminación ambiental. Esta origina procesos toxicológicos que desencadenan la producción de especies reactivas de oxígeno, mismas que provocan varios tipos de enfermedades. Por ello el estudio de las propiedades benéficas de los antioxidantes se encuentra en auge en nuestros días. Muchos de los compuestos antioxidantes se obtienen de plantas, pero si las especies productoras no son tratadas bajo las reglas de la sustentabilidad pronto se agotarán los recursos. Ello abre la posibilidad de establecer proyectos cuyos objetivos incluyan obtener compuestos antioxidantes a partir de cultivos de microorganismos dirigidos y a su vez de establecer cultivos sustentables de plantas medicinales.

Tabla 11. Microorganismos que producen metabolitos que proporcionan beneficios al ser humano.

Microorganismos		Antibióticos	Enzimas	Otros metabolitos
Bacterias	<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , Variant <i>Salmonella gallinarum</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , Swine <i>Salmonella</i> , <i>Salmonella</i> <i>enterica</i> y <i>Chicken Escheri</i> <i>colcheri Kichia colcher</i>	Enzimas hidrolíticas, queratinasa, xilanasa, serina proteasa alcalina.	Vainillina
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Péptidos antibacterianos	Proteasa alcalina, proteasa IV y elastasas.	Proteínas surfactantes A y D
Levaduras	<i>Candida parapsilosis</i>		proteasas, fosfolipasas y hemolisinas	
	<i>Rhodotorula sp.</i>		Lipasa	
Hongos	<i>Acremonium sp.</i>	Cefalosporinas inmunosupresoras, indoliterpenoides, inhibidores de fenoles, penicilina N acremonidinas A y B, y acremoxantonas A y B.		
	<i>Talaromyces sp.</i>	Antagonistas fúngicos más importantes que se utilizan como agentes de biocontrol de patógenos del suelo como <i>Verticillium dahliae</i> , <i>V.</i> <i>albo-atrum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .	β -rutinosidasa y fosfatasa, endoglucanasa y celulasa.	Alcaloides, péptidos, lactonas, policétidos y compuestos de tipo de estructura Miscelánea. Biosurfactanos.
	<i>Aspergillus niger</i>		α -amilasa, celulasa, amiloglucosidasa, catalasa, glucosa oxidasa, lipasa, pectinasa y carboximetilcelulasa, β -glucosidasa y celobiohidrolasa.	Acido cítrico
	<i>Fusarium sp.</i>	Pigmento bikaverina	Ciclase o desaturasa.	β -caroteno, licopeno y neurosporaxantina. Pigmentos (bikaverina)
	<i>Paecilomyces lilacinus</i>		Quitinas, proteasas y lipasas.	
	<i>Penicillium citrinum</i>	Compuestos derivados de citrinina (<i>Candida albicans</i> y <i>Cryptococcus neoformans</i>).		ML-236B, un inhibidor de la 3- hidroxi-3- metilglutarilCoA reductasa, y giberelinas.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

CONCLUSIONES.

El problema de la contaminación ambiental es muy amplio, lo cual permite un gran número de estudios por realizarse. Estos incluyen desde monitoreos ambientales, estudios de toxicología, bioquímica, evolución, entre otros. En este trabajo se abordó un tema de forma bibliográfica relacionado con el estudio de algunas especies microbianas que a lo largo de varios años se han ido aislando y caracterizando. Estos microorganismos se han incluido en la colección que se tiene en el laboratorio de Bioquímica de la Universidad del Papalopan, Campus Tuxtepec e incluyen bacterias, levaduras y hongos. Todos han sido recolectados en ambientes contaminados localizados en esta región de Oaxaca, así como de un conglomerado que creció en un degradado químico de polietilentereftalato (PET) llevado a cabo con la finalidad de realizar investigación relacionada con el reciclaje.

La investigación bibliográfica incluyó referencias en su mayoría actuales, así como literatura básica fechada dentro del intervalo de tiempo de 1954 a la fecha, misma que sirvió para conocer las características propias de cada una de las especies. Esta investigación incluyó los aspectos: generalidades, importancia médica, farmacéutica, alimentaria, agrícola y mediambiental. Por ello muchas de las referencias tuvieron que ser rastreadas hasta los primeros tiempos de su publicación y al realizar lo anterior, se pudo ver que mucha de la información básica, para algunos de los microorganismos, no ha cambiado. Por esa razón fueron incluidas en esta revisión.

La información obtenida, empleando los medios bibliográficos consultados en este trabajo de Tesis, tiene importancia dentro de varios campos de acción.

El primero se relaciona con el conocimiento de las características de cada uno de los microorganismos con los que se cuenta en la colección, generada a través del desarrollo de varios proyectos dentro de uno de los laboratorios de la Universidad del Papalopan, Campus Tuxtepec. Este conocimiento resulta muy importante ya que, a partir de él, se pueden establecer diferentes trabajos de investigación dentro de las áreas de la salud, la industria y el medioambiente. Estas investigaciones podrán servir, en un futuro, para poder atacar problemas relacionados con fenómenos como contaminación ambiental y sustentabilidad, así como dentro de áreas de la ciencia como biología, bioquímica, microbiología, ciencias ambientales, biotecnología, genética y biología molecular entre otras.

El segundo se relaciona con la importancia del conocimiento generado y su difusión hacia la comunidad. A lo largo de este trabajo se pudo comprobar que todos los microorganismos que fueron investigados

tienen incidencia en la salud, aún aquellos que se había pensado que resultarían inocuos. En mayor o menor grado pueden afectar uno o más órganos, no solo de los seres humanos sino también de plantas y animales. A partir de esta información y utilizando medios de difusión se podrían generar comunicados que podrían darse a conocer en diferentes instituciones educativas y con ello fomentar el cuidado de la gente al utilizar algunas fuentes de agua contaminadas.

La información generada tiene implicación en otras áreas no menos importantes que las mencionadas anteriormente. Estas incluyen la producción de moléculas de interés biológico que inciden en áreas tan variadas como la farmacéutica, la ambiental, la alimentaria, la cosmetología, y la investigación, entre otras.

Los medios de información consultados proporcionaron las herramientas suficientes para poder llevar a cabo este trabajo de investigación.

Finalmente se puede afirmar que de acuerdo con la información recaudada se recomienda considerar medidas que ayuden a contrarrestar la contaminación ambiental en la región de Tuxtepec, Oaxaca. Así como la intervención de las autoridades correspondientes para solucionar este problema ambiental

PERSPECTIVAS

Aplicar el conocimiento recopilado en este trabajo para generar protocolos experimentales en los que se estudien varios de los aspectos reportados en este trabajo y con ello ampliar el conocimiento científico en diferentes áreas.

Difundir el conocimiento generado a la población estudiantil en primera instancia para abrir nuevas áreas de estudio relacionados con los diferentes campos mencionados en este trabajo.

Hacer del conocimiento de los académicos, la información contenida en este escrito y que sea utilizada para enriquecer materias relacionadas con la matrícula de los estudiantes de diversas carreras del área biológica.

Difundir el conocimiento a la población en general, en forma de foros, folletos o algún otro medio informativo para generar conciencia sobre el riesgo de utilizar medios contaminados en su vida cotidiana y con ello evitar posibles complicaciones de salud. Así como la importancia de su cuidado.

Seguir aislando y caracterizando cepas de microorganismos e investigar sus propiedades, efectos y demás características que sean útiles para el desarrollo humano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbott, S. L.; Moler, S.; Green, N.; Tran, R. K.; Wainwright, K.; Janda, J. M. (2011). Clinical and Laboratory Diagnostic Characteristics and Cytotoxic Potential of *Hafnia alvei* and *Hafnia paralvei* Strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(9), 3122–3126. doi: 10.1128/jcm.00866-11

Abellón Ruiz, J. (2016). El universo microscópico, un largo camino por descubrir. *Revista Eubacteria. Investigadores en el extranjero*. No. 35, 6-11.

Acevedo Barrios, R.L., Severiche Sierra, C.A., Jaime Morales, J. del C. (2015). Bacterias resistentes a antibióticos en ecosistemas acuáticos. *Producción + Limpia*. 10: 160-172.

Afzal Khan, S.; Hamayun, M.; Yoon, H.; Kim, Ho-Youn; Suh, Seok-Jong; Hwang, Seon-Kap; Kim, Jong-Myeong; Lee, In-Jung; Choo, Yeon-Sik; Yoon, Ung-Han; Kong, Won-Sik; Lee, Byung-Moo; Ki, Jong-Guk. (2008). Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*. *BMC Microbiology*, 8(231), 1-10. doi: 10.1186/1471-2180-8-231

Albert, M. J.; Alam, K.; Islam, M.; Montanaro, J.; Rahaman, A. S.; Haider, K.; Hossain, M. A.; Kibriya, A. K.; Tzipori, S. (1991). *Hafnia alvei*, a probable cause of diarrhea in humans. *Infection and immunity*, 59(4), 1507-1513. doi: 10.1128/iai.59.4.1507-1513.1991.

Al-Nasrawi, H. (2012). Biodegradation of Crude Oil by Fungi Isolated from Gulf of Mexico. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 3(4), 1-6. doi: 10.4172/2155-6199.1000147

Amaiike, S. & Keller, N. P. (2011). *Aspergillus flavus*. *Annual Review of Phytopathology*, 49, 107-133. doi: 10.1146/annurev-phyto-072910-095221

Amare, M. G., & Keller, N. P. (2014). Molecular mechanisms of *Aspergillus flavus* secondary metabolism and development. *Fungal Genetics and Biology*, 66, 11-18. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2014.02.008>

Anastasiadis, I.A.; Giannakou, I.O.; Prophetou-Athanasiadou, D.A.; Gowen, S.R. (2008). The combined effect of the application of a biocontrol agent *Paecilomyces lilacinus*, with various practices for the control of root-knot nematodes. *Crop Protection*, 27, 352–361. doi: 10.1016/j.cropro.2007.06.008

Andersen, M. R.; Nielsen, M. L.; Nielsen, J. (2008). Metabolic model integration of the bibliome, genome, metabolome and reactome of *Aspergillus niger*. *Molecular Systems Biology*, 4(178), 1-13. doi: 10.1038/msb.2008.12

Antoine (2003). URL: https://es.wikipedia.org/wiki/Hafniaceae#/media/Archivo:Photo_culture_hafnia_alvei.jpg

Antonissen G, Martel A, Pasmans F et al (2014) The impact of *Fusarium* mycotoxins on human and animal host susceptibility to infectious diseases. *Toxins* 6:430–452

Apella, M., Araujo, P (2005). Microbiología de agua. Conceptos básicos. pp. 33-50. PDF. Libro060905.pmd (psa.es)

Ariffin, H.; Abdullah, N.; Umi Kalsom, M.S.; Shirai, Y.; Hassan, M.A. (2006). Production and characterisation of cellulase by *Bacillus pumilus* EB3. *International Journal of Engineering and Technology*, 3(1), 47-53.

- Arredondo-García, J. L.; Amábile-Cuevas, C. F.; RedMic2 Study Group. (2009). Susceptibility of Mexican isolates of yeasts and moulds to amphotericin B and triazole antifungals. *J. Infect. Dev. Ctries.*, 3(5), 398-401
- Auge, M. (2004). Hidrogeología ambiental. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires.
- Avalos J, Pardo-Medina J, Parra-Rivero O et al (2017) Carotenoid biosynthesis in *Fusarium*. *J Fungi* 3:39
- Avendaño Flores, Y.S. (2012). Biorreducción de Cr (VI) a Cr (III) por bacterias resistentes a cromo aisladas del río Lerma. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.
- Baker, S. E. (2006). *Aspergillus niger* genomics: Past, present and into the future. *Medical Mycology*, 44, S17-S21. doi: 10.1080/13693780600921037
- Baldrian, P. (2003). Interactions of heavy metals with white-rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology*. 32: 78-91.
- Bansal, S.; Garg, M.; Chatterjee, M. (2019). Evaluation of heavy metal resistance profile of *Candida parapsilosis*. *Indian Journal of Biotechnology*, 18, 64-68.
- Baral, N.; Nayak, N.; Shrestha, R.; Parajuli, R.; Hamal, D.; Raj B.; Gowda, S.; Gokhale, S. (2018). *Hafnia alvei* bacteremia following bronchopneumonia in an eleven month old child: a case report from a tertiary care hospital in Nepal. *International Journal of Advancement in Life Sciences Research*. 1: 34-43. doi: 10.31632/ijalsr.2018v01i02.004
- Barron, G. (2013). *Aspergillus flavus* - scanning electron micrograph, rough conidiophore. URL: <http://hdl.handle.net/10214/5997>
- Bennett, J. W.; Fernholz, F. A.; Lee, L. S. (1978). Effect of light on aflatoxins, anthraquinones, and sclerotia in *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. *Mycological Society of America*, 70(1), 104-116. <http://www.jstor.org/stable/3758691>
- Bever, R. J. Jr.; Couch, L. H.; Sutherland, J. B.; Williams, A. J.; Beger, R. D.; Churchwell, M. I.; Doerge, D. R.; Howard, P. C. (2000) DNA adduct formation by *Fusarium* culture extracts: lack of role of fusarin C. *Chemico-Biological Interactions*, 128(2),141-57. doi: 10.1016/s0009-2797(00)00195-2
- Bonifaz, A. (2012) *Micología Médica Básica*, Capítulo 5: Hongos Contaminantes, 4 edición, McGrawHill: México. 65-600p.
- Bottone, E. J. & Peluso, R. W. (2003). Production by *Bacillus pumilus* (MSH) of an antifungal compound that is active against Mucoraceae and *Aspergillus* species: preliminary report. *Journal of Medical Microbiology*, 52, 69-74. doi: 10.1099/jmm.0.04935-0
- Bravo-Burguillos R., L. (2018) Resistencia antibiótica en *Pseudomonas aeruginosa*: situación epidemiológica en España y alternativas en tratamiento. Trabajo fin de grado, Universidad Complutense, España. URL: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/62479/>
- Brock. (2009). *Biología de los microorganismos*. Madrid, España: Pearson

- Bustos, V. (2020). *Aparecen lagartos en Tuxtepec, Oaxaca*. Oaxaca, Tuxtepec. Recuperado de: <https://www.elpinero.mx/alertan-presencia-de-lagartos-en-laguna-linda-vista-de-tuxtepec-precaucion-escolares/>
- Blindauer, C.A.; M.D. Harrison, J.A. Parkinson, N.J. Robinson, P.J. Sadler, (2008). Isostructural replacement of zinc by cadmium in bacterial metallothionein, *Chemistry*.
- Cai, W.; Li, J.; Zhang, Z. (2007). The characteristics and mechanisms of phenol biodegradation by *Fusarium sp.* *Journal of Hazardous Materials*, 148, 38-42. doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.02.002
- Caiceros, C. (2019). Veneno de empresas oaxaqueñas y veracruzanas consume Río Papaloapan. Recuperado de: <http://www.e-veracruz.mx/nota/2019-07-31/ecologia/veneno-de-empresas-oaxaqueñas-y-veracruzanas-consume-rio-papaloapan>
- Cañón Rubio, D. (2017). Evaluación de la acción de los hongos *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma harzianum* y *Lecanicillium lecanii* sobre el nematodo *Globodera pallida* Stone (Behrens) en plantas de papa variedad criolla galeras. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Bogotá D.C.
- Carrión, G. & Desgarennes, D. (2012). Efecto de *Paecilomyces lilacinus* en Nemátodos de Vida Libre Asociados a la Rizósfera de Papas Cultivadas en la Región del Cofre de Perote, Veracruz, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 30(1), 86-90. doi: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v30n1/v30n1a9.pdf>
- Carruba, G.; Pontieri, E.; De Bernardis, F.; Martino, P.; Cassone, A. (1991). DNA fingerprinting and electrophoretic karyotype of environmental and clinical isolates of *Candida parapsilosis*. *Journal Clinical Microbiology*, 29, 916-922. doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.29.5.916-922.1991>
- Cary, J. W.; Gilbert, M. K.; Lebar M.D.; Majumdar R. (2018). *Aspergillus flavus* Secondary Metabolites: More than Just Aflatoxins, *Food Safety*, 6(1), 7-32. doi: 10.14252/foodsafetyfscj.2017024
- Cervantes, C., et al. (2006). Interacciones microbianas con metales pesados. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 48: 203-210.
- Chapartegui-González, I.; Lázaro-Díez, M.; Redondo-Salvo, S.; Amaro-Prellezo, E.; Esteban-Rodríguez, E.; Ramos-Vivas, J. Biofilm formation in *Hafnia alvei* HUMV-5920, a human isolate. *AIMS Microbiology*, 2(4), 412-421. doi: 10.3934/microbiol.2016.4.412
- Chellaiah, Edward Raja (2018). Cadmium (heavy metals) bioremediation by *Pseudomonas aeruginosa*: a minireview. *Applied Water Science*, 8(6), 154-. doi: 10.1007/s13201-018-0796-5
- Chiang, P., & Burrows, L. L. (2003). Biofilm Formation by Hyperpiliated Mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 185(7), 2374-2378. doi: 10.1128/jb.185.7.2374-2378.2003
- Chu, J.; Wang, Y.; Zhao, Bo; Zhang, Xuan-ming; Liu, K.; Mao, L.; Kalamiyets, E. (2019). Isolation and identification of new antibacterial compounds from *Bacillus pumilus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10083-y>

- Covarrubias, S.A., Peña Cabriales, J.J. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: problemática y estrategias de fitorremediación. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 33: 7-21. doi: 10.20937/RICA.2017.33.esp01.01
- Cruz-Martín, M.; Acosta-Suárez, M; Mena E.; Roque, B.; Pichardo, T.; Alvarado-Capó, Y (2018). Effect of *Bacillus pumilus* CCIBP-C5 on *Musa–Pseudocercospora fjiensis* interaction. *3 Biotech*, 8(122). doi: <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1152-z>
- D`Costa, P.M., D`Silva, M.S., Naik, R.K. (2017). Impact of Pollution on Phytoplankton and Implications for Marine Ecosystems. En M.M. Naik, S.K. Dubey (eds.), *Marine Pollution and Microbial Remediation* (pp. 205-222). doi: 10.1007/978-981-10-1044-6_13
- Daferera, D. J.; Ziogas, B. N.; Polissiou, M. G. (2003) The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop Protection*, 22, 39-44.
- Dai, Q.; Zhang, T.; Zhao, Y.; Li, Q.; Dong, F.; Jiang, C. (2020). Potentiality of living *Bacillus pumilus* SWU7-1 in biosorption of strontium radionuclide. *Chemosphere*, 260(127559), 1-9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127559>
- Das, S.; Saha, R.; Ahmad Dar, S.; Ramachandran V. G. (2010). *Acremonium* Species: A Review of the Etiological Agents of Emerging Hyalohyphomycosis. *Mycopathologia*, 170, 361–375. doi: 10.1007/s11046-010-9334-1
- De Frutos, M.; López, E.; Aragón, R.; López-Urrutia, L.; Ramos, C.; Domínguez-Gil, M.; Viñuela, L.; Garcinuño, S.; Eiros, J. M. (2017). Descriptivo de *Hafnia alvei* aisladas en coprocultivo: aproximación a su valoración en clínica. *Revista Española de Quimioterapia*, 30(4), 280-284. URL: <https://seq.es/seq/0214-3429/30/4/completo.pdf#page=44>
- De Pasquale, I.; Di Cagno, R.; Buchin, S.; De Angelis, M.; Gobbetti, M. (2014). Microbial Ecology Dynamics Reveal a Succession in the Core Microbiota Involved in the Ripening of Pasta Filata Caciocavallo Pugliese Cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(19), 6243–6255. doi: 10.1128/aem.02097-14
- De, J., Ramaiah, N., Vardanyan, L. (2008). Detoxification of Toxic Heavy Metals by Marine Bacteria Highly Resistant to Mercury. *Mar Biotechnol.* 10: 471–477.
- Deb, C. R., & Jamir, B. (2018). Nutritional Assessment and Molecular Identification of Microorganisms from Akhuni/Axone: A Soybean Based Fermented Food of Nagaland, India. *Journal of Advances in Biology*, 11, 2170–2179. doi: <https://doi.org/10.24297/jab.v11i1.7118>
- Demain L., A. & Zhang, J. (1998). Cephalosporin C Production by *Cephalosporium acremonium*: The Methionine Story. *Critical Reviews in Biotechnology*, 18(4), 283-294. doi: <https://doi.org/10.1080/0738-859891224176>
- Deshmukh, R.; Mathew, A.; Purohit, H. J. (2014). Characterization of antibacterial activity of bikaverin from *Fusarium sp.* HKF15. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 117(4), 443-448. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.09.017>

Dewapriya, P.; Prasad, P.; Damodar, R.; Salim, A. A.; Capon, R. J. (2017). Talarolide A, a Cyclic Heptapeptide Hydroxamate from an Australian Marine Tunicate-Associated Fungus, *Talaromyces sp.* (CMB-TU011). *Organic Letters*, 19, 2046-2049. doi: 10.1021/acs.orglett.7b00638

Diario Oficial de la Federación (DOF). (2015). Determinación de la disponibilidad de agua en el acuífero Tuxtepec, estado de Oaxaca. *Comisión Nacional del Agua (CONAGUA)*. PDF. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/103965/DR_2007.pdf

Díaz, D.P., Perez S., A.J.A. (2005). Hidrología de superficie y precipitaciones intensas 2005 en el estado de Veracruz. En *Inundaciones 2005 en el estado de Veracruz*, pp. 81-99. PDF. https://www.uv.mx/eventos/inundaciones2005/PDF/06_HIDROLOG%C3%ADA.pdf

Díaz, D.P., Perez S., A.J.A., Salas O., M. del R. (2010). Hidrología. En *Atlas del patrimonio Natural, histórico y cultural de Veracruz*. pp. 85-122. PDF. <http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/9650>

Díaz, G. V.; Coniglio, R. O.; Chungara, C. I.; Zapata, P. D.; Villalba, L. L.; Fonseca, M. I. (2020). *Aspergillus niger* LBM 134 isolated from rotten wood and its potential cellulolytic ability. *Mycology*. doi: 10.1080/21501203.2020.1823509

Dignani MC, Anaissie E (2004) Human fusariosis. *Clin Microbiol Infect* 10:67–75

Dodge, A. G. & Wackett, L. P. (2005). Metabolism of Bismuth Subsalicylate and Intracellular Accumulation of Bismuth by *Fusarium sp.* Strain BI. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(2), 876-882. doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.2.876-882.2005>

Dos Santos Brito, M.M.; Da Silva Lima, M.; Nazaré Morgado, F.; Raibolt, P.; Menezes, R.; Conceição-Silva, F.; De Moraes Borba, C. (2011). Characteristics of *Paecilomyces lilacinus* infection comparing immunocompetent with immunosuppressed murine model. *Mycoses*, 54, e513–e521. doi: 10.1111/j.1439-0507.2010.01969.x

Douglas O. M. & Rhodes, L. L. (1991). Anaerobic Growth and Fermentation Characteristics of *Paecilomyces lilacinus* Isolated from Mullet Gut. *Applied and environmental microbiology*, 1963-1968.

Ehrlich, H. C. (2014). Non-aflatoxigenic *Aspergillus flavus* to prevent aflatoxin contamination in crops: advantages and limitations. *Frontier in Microbiology*, 5, 1-9. doi: 10.3389/fmicb.2014.00050

El Universal, Oaxaca. (2020). *Guardián de las iguanas, una misión voluntaria*. Recuperado de: Guardián de las iguanas, una misión voluntaria | Oaxaca (eluniversal.com.mx)

Escalante, A.; Elena Rodríguez, M.; Martínez, A.; López-Munguía, A.; Bolívar, F.; Gosset, G. (2004). Characterization of bacterial diversity in Pulque, a traditional Mexican alcoholic fermented beverage, as determined by 16S rDNA analysis. *FEMS Microbiology Letters*, 235(2), 273–279. doi: 10.1111/j.1574-6968.2004.tb09599.x

Esquivel-Viveros, A.; Ponce-Vargas, F.; Esponda-Aguilar, P.; Prado-Barragán, L.A.; Gutiérrez-Rojas, M.; Lye, G.J., Huerta-Ochoa, S. (2009). Biodegradation of [bmim][PF₆] using *Fusarium sp.* *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 8(2), 163-168. URL: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v8n2/v8n2a2.pdf>

Estrada, R. R. G.; Valle, F. de J. A.; Sánchez, J. A. R.; Santoyo, M. C. (2017). Use of a marine yeast as a biocontrol agent of the novel pathogen *Penicillium citrinum* on Persian lime. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(2), 114-122. doi: 10.9755/ejfa.2016-09-1273

F. Remonsellez, A. Orell, C.A. Jerez, (2006). Copper tolerance of the thermoacidophilic archaeon *Sulfolobus metallicus*: possible role of polyphosphate metabolism, *Microbiology*, 152, 59–66.

F. Tuon, F. & F. Costa, S. (2008). *Rhodotorula* infection. A systematic review of 128 cases from literature. *Rev Iberoam Micol*, 25(3), 135-140. doi: 10.1016/s1130-1406(08)70032-9.

Falconi, F.; Flores, A.; Castellanos, P. (2010). Letalidad de hongos entomopatogenos sobre *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera: Pirrhocoridae). *Rev. Peru. Biol.*, 17(2), 225-229.

Felipe-Collado, L. (2022). Aislamiento, identificación y caracterización microbiológica de hongos crecidos en un degradado químico de polietilentereftalato. Tesis Profesional (*en proceso*), Universidad de Papaloapan, Campus Tuxtepec. San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca.

Fincher, R. M.; Fisher, J. F.; Lovell, R. D.; Newman, C. L.; Espinel-Ingroff, A.; Shadomy, H. J. (1991). Infection due to the fungus *Acremonium* (*Cephalosporium*). *Medicine*, 70(6), 398-409. doi: 10.1097/00005792-199111000-00005

Ford, T. (1994). Pollutant Effects on the Microbial Ecosystem. *Environmental Health Perspectives*. 102: 45-49. <https://www.jstor.org/stable/3838030>

Frisvad, J.C.; Hubka, V.; Ezekiel C. N.; Hong, S-B.; Novákova, A., Chen, A. J., Arzanlou, M., Larsen, T. O., Sklenar F., Mahakamchanakul, W., Samson, R. A., Houbraken, J. (2019). Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. *Studies in Mycology*, 93, 1-63. doi: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.06.001>

Fu, Y. & Viraraghavan, T. (2002). Dye biosorption sites in *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, 82, 139-145. doi: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00172-9](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00172-9)

Fun. (2015). *Penicillium citrinum*. Fun With Microbiology (What's Buggin' You?). URL: <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/2015/08/penicillium-citrinum.html>

G. Maynaud, B. Brunel, E. Yashiro, M. Mergeay, J.-C. Cleyet-Marel, A. Le Quéré, (2014) CadA of *Mesorhizobium metallidurans* isolated from a zinc-rich mining soil is a PIB-2-type ATPase involved in cadmium and zinc resistance, *Res. Microbiol.* 165 175–189.

G.M. Teitzel, M.R. Parsek, Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*, *Appl. Environ. Microbiol.* 69 (2003) 2313–2320.

G.S. Nagvenkar, N. Ramaiah, Arsenite tolerance and biotransformation potential in estuarine bacteria, *Ecotoxicology* 19 (2010) 604–613.

Galicia-Apolinar, J. A. (2013). Efecto de la exposición a plomo en bacterias aisladas de efluentes contaminados. Tesis Profesional, Universidad de Papaloapan, Campus Tuxtepec. San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca.

- García G., I.; Jiménez P., P. R.; Bonilla V., J. L.; Martín M., A.; Martín S., M.A.; Ramos G., E. (2000). Removal of phenol compounds from olive mill wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*. *Process Biochemistry*, 35, 751-758. doi: [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(99\)00135-1](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(99)00135-1)
- García-Suárez, J., Gómez-Herruz, P., Burgaleta, C. Epidemiology and outcome of *Rhodotorula* infection in haematological patients. *Mycoses*, 54, 318-324. doi:10.1111/j.1439-0507.2010.01868.x
- Giraldo, A.; Gené, J.; Sutton, D. A.; Wiederhold, N.; Guarro, J. (2017). New *acremonium*-like species in the Bionectriaceae and Plectosphaerellaceae. *Mycol Progress*. doi: 10.1007/s11557-017-1271-7
- Girlich, D.; Naas, T.; Bellais, S.; Poirel, L.; Karim, A.; Nordmann, P. (2000). Biochemical-Genetic Characterization and Regulation of Expression of an ACC-1-Like Chromosome-Borne Cephalosporinase from *Hafnia alvei*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(6), 1470-1478. doi: 10.1128/aac.44.6.1470-1478.2000
- Gobler, C., E. Boneillo, G. (2003). Impacts of anthropogenically influenced groundwater seepage on water chemistry and phytoplankton dynamics within a coastal marine system. *Marine Ecology Progress Series*. 255: 101-114.
- Gómez Álvarez, C. A.; Leal Castro, A. L.; Pérez de Gonzalez, M. de J.; Navarrete Jiménez, M. L. (2005). Mecanismos de resistencia en pseudomonas aeruginosa: entendiendo a un peligroso enemigo. Revista de la Facultad de Medicina, 53(1), 27-34. URL: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112005000100004
- Gonzales S., F. (2012). Contra la naturaleza desbocada; análisis crítico del discurso técnico científico moderno en el mural "La vida Primitiva en la Cuenca del Papaloapan", Temascal, Oaxaca, México. En *Avances en Historia y Estudios Sociales sobre la Ciencia y la Tecnología*. Trabajos en la SMHCT 2011-2012, pp. 396-413. (PDF) [Contra la naturaleza desbocada; análisis crítico del discurso técnico científico moderno en el mural 'La vida primitiva en la Cuenca del Papaloapan', Temascal, Oaxaca, México | Fabricio González Soriano - Academia.edu](https://www.academia.edu/100000000/Contra_la_naturaleza_desbocada_analisis_critico_del_discurso_tecnico_cientifico_moderno_en_el_mural_La_vida_primitiva_en_la_Cuenca_del_Papaloapan_Temascal_Oaxaca_Mexico)
- Gouma, S., Fragoeiro, S., Bastos, A.C., Magan, N. (2014). Bacterial and Fungal Bioremediation Strategies. En: *Microbial Biodegradation and Bioremediation*, 301-323. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800021-2.00013-3>
- Gu, Z.; Liu, Y.; Shen, L.; Liu, X.; Xiao, N.; Jiao, N.; Liu, H.; Zhou, Y.; Zhang, S. (2015). *Hafnia psychrotolerans* sp. nov., isolated from lake water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65, 971-4. doi: 10.1099/ijms.0.000049
- Guamán-Burneo, C. & Carvajal-Barriga, J. (2009). Caracterización e identificación de aislados de levaduras carotenogénicas de varias zonas naturales del Ecuador. *Universitas Scientiarum*, 14(2-3), 187-197. URL: <http://www.scielo.org.co/pdf/unsc/v14n3/v14n3a02.pdf>
- Guarro, J.; Gams, W.; Pujol, I.; Gené J. (1997). *Acremonium* species: new emerging fungal opportunists - *In vitro* antifungal susceptibilities and review. *Clinical Infectious Diseases*, 25(5), 1222-1229. doi: <https://doi.org/10.1086/516098>

- Günthard, H. & Pennekamp, A. (1996). Clinical significance of extraintestinal *Hafnia alvei* isolates from 61 patients and review of the literature. *Clinical Infectious Diseases*, 22(6), 1040-1045. URL: <http://www.jstor.org/stable/4459487>
- Gunther, K.; Schlosser, D.; Fritsche, W. (1995). Phenol and cresol metabolism in *Bacillus pumilus* isolated from contaminated groundwater. *Journal Basic Microbiology*, 35(2), 83-92. doi: <https://doi.org/10.1002/jobm.3620350205>
- H.-C. Yang, H.-L. Fu, Y.-F. Lin, B.P. Rosen, Pathways of Arsenic Uptake and Efflux, Current Topics in Membranes, Elsevier, 2012, pp. 325–358.
- Hadrich, I.; Makni, F.; Neji, S.; Cheikhrouhou, F.; Bellaaj, H.; Elloumi, M.; Ayadi, A.; Ranque, S. (2012). Amphotericin B *in vitro* resistance is associated with fatal *Aspergillus flavus* infection. *Medical Mycology*, 50 (8), 829-834. doi: <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.684154>
- Halling Sørensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P.F., Jørgensen, S.E. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - a review. *Chemosphere*. 36: 357-393. doi: 10.1016/S0045-6535(97)00354-8
- Hander, D.P., Gao, K. (2015). Interactions of anthropogenic stress factors on marine phytoplankton. *Frontier in Environmental Science*. 3: 1-14. doi: 10.3389/fenvs.2015.00014
- Hassen, A., Saidi, N., Cherif, M. Boudabous, A. (1998). Resistance of environmental bacteria to heavy metals. *Bioresource Technology*. 64: 7-15.
- He, H., et al. (2003). Acremonidins, New Polyketide-derived Antibiotics Produced by *Acremonium sp.*, LL-Cyan 416. *The Journal of Antibiotics*, 56(11), 923-930. doi: <https://doi.org/10.7164/antibiotics.56.923>
- He, Zhu-Mei; Price, M. S.; OBrian, G. R.; Georgianna, D. R.; Payne, G. A. (2007). Improved protocols for functional analysis in the pathogenic fungus *Aspergillus flavus*. *BMC Microbiology*, 7(104), 1-11. doi: 10.1186/1471-2180-7-104
- Hedayati, M. T.; Pasqualotto, A. C.; Warn, P. A.; Bowyer, P.; Denning, D. W. (2007). *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*, 153, 1677–1692. doi: 10.1099/mic.0.2007/007641-0
- Heidarzadeh, N. & Baghaee-Ravari, S. (2016). Application of *Bacillus pumilus* as a potential biocontrol agent of Fusarium wilt of tomato. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/03235408.2016.1140611>
- Hesse, S. E.; Luethy, P. M.; Beigel, J. H.; Zelazny, A. M. (2017). *Penicillium citrinum*: opportunistic pathogen or idle bystander? A case analysis with demonstration of galactomannan cross-reactivity. *Medical Mycology Case Reports*. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mmcr.2017.05.003>
- Honary, S.; Barabadia, H.; Gharaei-Fathabada, E.; Naghibi, F. (2012). Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium citrinum* and *Penicillium waksmanii*. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 7(3), 999-1005. URL: https://www.chalcogen.ro/999_Honary.pdf

Honary, S.; Barabadia, H.; Gharaei-Fathabada, E.; Naghibi, F. (2013). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Induced by the Fungus *Penicillium citrinum*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(1), 7-11. doi: <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v12i1.2>

Hosobuchi, M.; Ogawa, K.; Yoshikawa, H. (1993). Morphology Study in Production of ML-236B, a Precursor of Pravastatin Sodium, by *Penicillium citrinum*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 76(6), 470-475. doi: [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(93\)90243-2](https://doi.org/10.1016/0922-338X(93)90243-2)

Houbraken, J. A. M. P.; Frisvad, J. C.; Samson, R. A. (2010). Taxonomy of *Penicillium citrinum* and related species. *Fungal Diversity*, 44, 117-133. doi: 10.1007/s13225-010-0047-z

Hoult, B. & Tuxford, A.F. (1991). Toxin production by *Bacillus pumilus*. *Journal Clinical Pathology*, 44(6), 455-458. doi: <http://dx.doi.org/10.1136/jcp.44.6.455>

Hua, D.; Ma, C.; Lin, S.; Song, L.; Deng, Z.; Maomy, Z.; Zhang, Z.; Yu, B.; Xu, P. (2007). Biotransformation of isoeugenol to vanillin by a newly isolated *Bacillus pumilus* strain: Identification of major metabolites. *Journal of Biotechnology*, 130, 463–470. doi: 10.1016/j.jbiotec.2007.05.003

Huys, G.; Cnockaert, M.; Abbott, S. L.; Janda, J. M.; Vandamme, P. (2009). *Hafnia paralvei* sp. nov., formerly known as *Hafnia alvei* hybridization group 2. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(8), 1725–1728. doi: 10.1099/ijs.0.018606-0

Imo, E. O. & Chidiebere, A. M. (2019). Fungal influenced corrosion of aluminium in the presence of *Acremonium kiliense*. *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res.*, 7, 1-6. doi: <http://dx.doi.org/10.33500/ijambr.2019.07.001>

Isaka, M.; Palasarn, S.; Auncharoen, P.; Komwijit, S.; Gareth Jones, E. B. (2009). Acremoxanthones A and B, novel antibiotic polyketides from the fungus *Acremonium* sp. BCC 31806. *Tetrahedron Letters*, 50, 284–287. doi: 10.1016/j.tetlet.2008.10.146

Ivanova P., I.; Vysotskii, M. V.; Svetashev, V. I.; Nedashkovskaya, O. I.; Gorshkova, N. M.; Mikhailov, V. V.; Yumoto, N.; Shigeri, Y.; Taguchi, T.; Yoshikawa, S. (1999). Characterization of *Bacillus* strains of marine origin. *International Microbiology*, 2, 267-271.

Janda, J.M. & Abbott, S.L. (2006). The genus *Hafnia*: from soup to nuts. *Clinical Microbiology Reviews*, 19 (1), 12-8. doi: 10.1128/CMR.19.1.12–28.2006

Järup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*. 68: 167-182. doi: 10.1093/bmb/ldg032

Jaysankar De; N. Ramaiah; L. Vardanyan (2008). Detoxification of Toxic Heavy Metals by Marine Bacteria Highly Resistant to Mercury. *Marine Biotechnology*, 10(4), 471–477. doi: 10.1007/s10126-008-9083-z

Jiang, Xian-Zhi; Yu, Zhong-Dong; Ruan, Yong-Ming; Wang, Long. (2018). Three new species of *Talaromyces* sect. *Talaromyces* discovered from soil in China. *Scientific Reports*, 8(4932), 1-11. doi: 10.1038/s41598-018-23370-x

Jimenez Islas, Donaji; Medina Moreno, Sergio A. y Gracida Rodriguez, Jorge Noel. (2010). Propiedades, aplicaciones y producción de biotensoactivos: una revisión. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 26(1), 65-84. URL: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v26n1/v26n1a6.pdf>

K. Yin, W. Zhang, L. Chen, Pyoverdine secreted by *Pseudomonas aeruginosa* as a biological recognition element for the fluorescent detection of furazolidone, *Biosens. Bioelectron.* 51 (2014) 90–96.

K.S. Chaturvedi, C.S. Hung, J.R. Crowley, A.E. Stapleton, Henderson, J.P. (2012). The siderophore yersiniabactin binds copper to protect pathogens during infection, *Nat. Chem. Biol.* 8 731.

Kapoor, A. & Viraraghavan, T. (1997). Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, 61, 221-227. doi: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(97\)00055-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(97)00055-2)

Kapoor, A.; Viraraghavan, T.; Cullimore, R. D. (1999). Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, 70, 95-104. doi: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00192-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00192-8)

Karaffa, L. & Kubicek, C. P. (2003). *Aspergillus niger* citric acid accumulation: do we understand this well working black box? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 189-196. doi: 10.1007/s00253-002-1201-7

Kimouli, M. Vrioni, G.; Papadopoulou, M.; Koumaki, V.; Petropoulou, D.; Gounaris, A.; Friedrich, A. W.; Tsakris, A. (2012). Two cases of severe sepsis caused by *Bacillus pumilus* in neonatal infants. *Journal of Medical Microbiology*, 61, 596-599. doi: 10.1099/jmm.0.033175-0

Komala T. y Khun T. C. (2014). Biological Carbon Dioxide Sequestration Potential of *Bacillus pumilus*. *Sains Malaysiana*, 43(8), 1149–1156

Kordowska-Wiater, M.; Kuzdraliński, A.; Czernecki, T.; Targoński, Z.; Frąc, M.; Oszust, K. (2017). The production of arabitol by a novel plant yeast isolate *Candida parapsilosis* 27RL-4. *Open Life Sciences*, 12, 326–336. doi: <https://doi.org/10.1515/biol-2017-0038>

Koss, T.; Bagheri, B.; Zeana, C.; Romagnoli, M. F.; Grossman, M. E. (2002). Amphotericin B - resistant *Aspergillus flavus* infection successfully treated with caspofungin, a novel antifungal agent. *Journal American Academy of Dermatology*, 46(6), 945-947. doi: 10.1067/mjd.2001.120627

Krzyżeciak, P., B. & Macura, A. (2010). Drug susceptibility of 64 strains of *Rhodotorula sp.* *Wiadomoœci Parazytologiczne*, 56, 167-170.

Kulshrestha, G. & Kumari, A. (2011). Fungal degradation of chlorpyrifos by *Acremonium sp.* Strain (GFRC-1) isolated from a laboratory-enriched red agricultural soil. *Biol Fertil Soils*, 47, 219–225. doi: 10.1007/s00374-010-0505-5

L. Wei, Y. Li, D.R. Noguera, N. Zhao, Y. Song, J. Ding, Q. Zhao, F. Cui, (2017) Adsorption of Cu²⁺ and Zn²⁺ by extracellular polymeric substances (EPS) in different sludges: effect of EPS fractional polarity on binding mechanism, *J. Hazard. Mater.* 321, 473–483.

Laffey, S. F. & Butler, G. (2005). Phenotype switching affects biofilm formation by *Candida parapsilosis*. *Microbiology*, 151, 1073-1081. doi: <https://doi.org/10.1099/mic.0.27739-0>

Larone, D. (2011) *Medically Important Fungi: A Guide to Identification*, Chapter Yeast and Yeastlike Organisms, ASM Press: Washington, Dc. pag 140 – 141, 485p.

Leslie, J. F. & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell. 1st Edition.

Li, J.; Cai, W.; Zhu, L. (2011). The characteristics and enzyme activities of 4-chlorophenol biodegradation by *Fusarium sp.* *Bioresource Technology*, 102, 2985–2989. doi: 10.1016/j.biortech.2010.10.006

Li, P., et al. (2021). Sources and Consequences of Groundwater Contamination. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 80: 1–10. doi: 10.1007/s00244-020-00805-z

Li, Z., Yuan, H. (2006). Characterization of cadmium removal by *Rhodotorula sp.* Y11. *Appl Microbiol Biotechnol*, 73, 458-463. doi: 10.1007/s00253-006-0473-8

Li, Z.; Yuan, H.; Hu, X. (2008). Cadmium-resistance in growing *Rhodotorula sp.* Y11. *Bioresource Technology*, 99, 1339-1344. doi:10.1016/j.biortech.2007.02.004

Lima, M. A. S.; Oliveira, M. D. C. F. D.; Pimenta, A. T.; Uchôa, P. K. (2019). *Aspergillus niger*: a hundred years of contribution to the natural products chemistry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30(10), 2029-2059. doi: <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20190080>

Linnemannstöns P, Prado M, Fernández-Martín R et al (2002) A carotenoid biosynthesis gene cluster in *Fusarium fujikuroi*: the genes *carB* and *carRA*. *Mol Genet Genomics* 267:593–602

Livermore, D. M. (2002). Multiple Mechanisms of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our Worst Nightmare? *Antimicrobial Resistance*, 34(5), 634-640. doi: <https://doi.org/10.1086/338782>

López Magaña, J.L., Manzano Sarabia, M.M., Hurtado Olivia, M.Á., et al. (2016). Fitoplancton: pequeños centinelas del océano. *Revista Ciencia*. PDF. <https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/online/FitoPlancton.pdf>

Lu, Zhen-Yu; Lin, Zhen-Jian; Wang, Wen-Liang; Du, L.; Zhu, Tian-Jiao; Fang, Yu-Chun; Gu, Qian-Qun; Zhu, Wei-Ming. (2008). Citrinin Dimers from the Halotolerant Fungus *Penicillium citrinum* B-57. *Journal of Natural Products*, 71, 543–546. doi: <https://doi.org/10.1021/np0704708>

Luangsa-ard, J.; Houbraken, J.; Van Doorn, T.; Hong, S-B.; Borman, A. M.; Hywel-Jones, N. L.; Samson, R. A. (2011). *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiology Letter*, 321, 141-149. doi: 10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x

Luján Roca, D.Á. (2014). *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 48(4), 465-74. URL: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572014000400009

Lukasiewicz, J.; Jachymek, W.; Niedziela, T.; Kenne, L.; Lugowski, C. (2009). Structural analysis of the lipid A isolated from *Hafnia alvei*32 and PCM 1192 lipopolysaccharides. *Journal of Lipid Research*, 51(3), 564–574. doi: 10.1194/jlr.m001362

Lurá, M.C.; Fuentes, M. B.; Cabagna, M.; González, A. M.; Nepote, A. F.; Giugni, M. C.; Rico, M.; Latorre, M. G. (2001). Actividad de metabolitos de *Penicillium citrinum* sobre ratones *Mus musculus*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 18, 183-186. URL: <https://www.reviberoammicol.com/2001-18/183186.pdf>

M. Deschatre, F. Ghillebaert, J. Guezennec, C.S. (2013). Colin, Sorption of copper (II) and silver (I) by four bacterial exopolysaccharides, *Appl. Biochem. Biotechnol*, 171, 1313–1327.

M. F. (2020). La contaminación de las napas. Empresa y economía. Recuperado de: <https://empresayeconomia.republica.com/desarrollo-sostenible/la-contaminacion-de-las-napas.html>

M. Noroozi, M. Amoozegar, A. Pourbabaei, N. Naghavi, Z. Nourmohammadi, Isolation and characterization of mercuric reductase by newly isolated halophilic bacterium, *Bacillus firmus* MN8, *Global J. Environ. Sci. Manage.* 3 (2017)

M. Remenar, A. Kamlarova, J. Harichova, M. Zámocký, P. Ferienc, The heavy metal resistance determinant of newly isolated bacterium from a nickel-contaminated soil in Southwest Slovakia, *Pol. J. Microbiol.* 67 (2018) 191–201.

M.M. Naik, S.K. Dubey, (2013). Lead resistant bacteria: Lead resistance mechanisms, their applications in lead bioremediation and biomonitoring, *Ecotoxicol. Environ. Saf*,98, 1–7.

Maharana, A., K. & Singh, S. M. (2018). A cold and organic solvent tolerant lipase produced by Antarctic strain *Rhodotorula sp.* Y-23. *Journal of Basic Microbiol*, 2018, 1-12. doi: 10.1002/jobm.201700638

Malmstrøm, J.; Christophersen, C.; Frisvad, J. C. (2000). Secondary metabolites characteristic of *Penicillium citrinum*, *Penicillium steckii* and related species. *Phytochemistry.* 54: 301-309. doi: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00106-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00106-0)

Manahan E., S. (2007). *Introducción a la Química Ambiental*. México, D. F. Editorial Reverté.

Marova, I., Certik, M., Breierova, E. (2011). Production of Enriched Biomass by Carotenogenic Yeasts - Application of Whole-Cell Yeast Biomass to Production of Pigments and Other Lipid Compounds. doi: 10.5772/19235

Mazlan, S.; Jaafar, N. M.; Wahab, A.; Sulaiman Z.; Rajandas, H.; Zulperi, D. (2021). Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Bacillus pumilus* causing trunk bulges of RRIM 3001 superclone rubber tree in Malaysia. *Eur. J. Plant. Pathol.* doi: <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02208-9>

Meloquero Matias, F.; Bertin de Lima, R.; Vataru Nakamura, C.; et al. (2015). Alterações morfológicas e estruturais em isolados de *Pseudomonas aeruginosa* após exposição ao meropenem

Milagro M., M (2012). *Pseudomonas aeruginosa multiresistente: aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos*. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona. URL: <http://hdl.handle.net/10803/107902>

Mohamed, S.; Flint, S.; Palmer, J.; Fletcher, G. C.; Pitt, J. I. (2013). An extension of the coconut cream agar method to screen *Penicillium citrinum* isolates for citrinin production. *The Society for Applied Microbiology. Letters in Applied Microbiology*, 57, 214-219. doi: 10.1111/lam.12102

Mohammadian, Elham; Babai Ahari, Asadollah; Arzanlou, Mahdi; Oustan, Shahin; Khazaei, Sayyed Hossein (2017). Tolerance to heavy metals in filamentous fungi isolated from contaminated mining soils in the Zanjan Province, Iran. *Chemosphere*, 185(), 290–296. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.07.022

Mokobi, F. (2020). *Candida parapsilosis*- An Overview. *Mycology, Microbe Notes*. URL: <https://microbenotes.com/candida-parapsilosis/>

Møller V. (1954). Distribution of amino acid decarboxylases in Enterobacteriaceae. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*, 35(3), 259-277. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1954.tb00869.x>

Montor Antonio, J.J. *et al.* (2014b). Caracterización bioquímica de AmiJ33, una amilasa de *Bacillus amyloliquefaciens* aislada de suelos cultivados con caña de azúcar en la región del Papaloapan. *Revista Electrónica Nova Scientia*. 6: 39-59.

Montor Antonio, J.J., *et al.* (2014a) Aislamiento, caracterización e identificación de cepas bacterianas productoras de amilasas y celulasas de suelos de alto rendimiento de la Cuenca del Papaloapan. XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. PDF. <https://smbb.mx/congresos%20smbb/queretaro11/TRABAJOS/trabajos/I/carteles/CI-44.pdf>

Moore, C.B.; Sayers, N.; Mosquera, J.; Slaven, J.; Denning, D. W. (2000). Antifungal Drug Resistance in *Aspergillus*. *Journal of Infection*, 41, 203-220. doi: 10.1053/jinf.2000.0747

Moreno Merino, Luis; Navarrete Martínez, Paloma; Virgós Soriano, Luis. (1998). Comportamiento de los microorganismos en el agua subterránea. En: *Conceptos básicos de microbiología de las aguas subterráneas*. pp. 30-51. PDF. http://aguas.igme.es/igme/publica/pdflib8/3_comporta.pdf

Mourgues, R.; Vassal, L.; Auclair, J.; Mocquot G.; Vandeweghe J. (1977). Origine et développement des bactéries coliformes dans les fromages à pâte molle. *Lait*, 57, 131-149. doi: <https://doi.org/10.1051/lait:1977563-5645>

Mukherjee, C., & Misra, A. K. (2008). First total synthesis of a pentasaccharide repeating unit of the O-antigen of *Hafnia alvei* PCM 1529. *Glycoconjugate Journal*, 25(2), 111–119. doi: 10.1007/s10719-007-9061-0

Munimbazi, C. & Bullerman, L.B. (1998). Isolation and partial characterization of antifungal metabolites of *Bacillus pumilus*. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 959-968. URL: http://higiene.unex.es/bibliogr/Antifung/JAM_8959.pdf

Munkvold, G. P. (2017). *Fusarium species and their associated mycotoxins*. In: Moretti A, Susca A (eds) *Mycotoxigenic fungi: methods and protocols*. Springer, New York

Nadjar, D.; Rouveau, M.; Verdet, C.; Donay, J.-L.; Herrmann, J. L.; Lagrange, P. H.; Philippon, A.; Arlet, G. (2000). Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing transferable Amp C-type β -lactamase (ACC-1) originating from *Hafnia alvei*. *FEMS Microbiology Letters*, 187(1), 35–40. doi: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09133.x

Nam, In-Hyun; Murugesan, K.; Ryu, J.; Kim, J. H. (2019). Arsenic (As) Removal Using *Talaromyces* sp. KM-31 Isolated from As-Contaminated Mine Soil. 568. doi: 10.3390/min9100568

Nash, C.H. & Huber, F.M. (1971). Antibiotic Synthesis and Morphological Differentiation of *Cephalosporium acremonium*. *Applied Microbiology*, 22(1), 6-10. doi: <https://doi.org/10.1128/am.22.1.6-10.1971>

- Navarro Moreno, L.G., et al (2015). La contaminación ambiental y la resistencia a los metales pesados. XII encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia. PDF. http://congresos.cio.mx/memorias_congreso_mujer/archivos/sesion1/S1-BYQ13.pdf
- Navarro-Moreno, L.G; Felipe-Collado, L; Nolasco-Hipólito, C. (2021). Hongos y PET: Una relación de adaptación. En: Diseminación de la Investigación en la Educación Superior-Celaya. Libro ISBN on line 978-1939982-90-2. 1844-1849.
- Nielsen, K. F.; Mogensen, J. M.; Johansen, M.; Larsen, T. O.; Frisvad, J. C. (2009). Review of secondary metabolites and mycotoxins from the *Aspergillus niger* group. *Anal Bioanal Chem*, 395, 1225-1242. doi: 10.1007/s00216-009-3081-5
- Oaxaca, Tuxtepec. (2020). *Plantean proyecto para sanear el Arroyo Moctezuma*. Recuperado de: <https://www.nvinoticias.com/nota/3293/plantean-proyecto-para-sanear-el-arroyo-moctezuma#:~:text=La%20propuesta%20que%20presentara%20la,arroyo%20con%20la%20finalidad%20de>
- Ochoa, S. A.; López-Montiel, F.; Escalona, G.; Cruz-Córdova, A.; B. Dávila, L.; López-Martínez, B.; Jiménez-Tapia, Y.; Giono, S.; Eslava, C.; Hernández-Castro, R.; Xicohtencatl-Cortes, J. (2013). Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 70(2), 138-150. URL: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-11462013000200010&script=sci_arttext
- Ordoñez Gálvez, J.J. (2011). Aguas subterráneas-Acuíferos. Sociedad Geográfica de Lima. Lima, Perú. PDF. https://www.gwp.org/globalassets/global/gwp-sam_files/publicaciones/varios/aguas_subterranas.pdf
- P. K. Joshi; Anand Swarup; Sonu Maheshwari; Raman Kumar; Namita Singh (2011). Bioremediation of Heavy Metals in Liquid Media Through Fungi Isolated from Contaminated Sources. *Indian J. Microbiol.*, 51(4), 482-487. doi: 10.1007/s12088-011-0110-9
- Padhye A.A. Hyalohyphomycosis. In: Balows A, Hausler WJ, Ohashi M, Turano A, editors. (1988). Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases. Principles and Practices. Vol. 1. *Bacterial, Mycotic, and Parasitic Diseases*, 654-662.
- Padilla, D.; Acosta, F.; Gómez, V.; Sierra, Rosario, I. E.M., Real, F. (2003). Importancia de *Hafnia alvei* en medicina veterinaria. *Revista Canaria de las Ciencias Veterinarias*, (1), 52-54. URL: [0280574_00001_0008.pdf](http://www.ulpgc.es/revista/veterinaria/0280574_00001_0008.pdf) (ulpgc.es)
- Padilla-Castillo, D. (2001). Caracterización del contenido plasmidico de hafnia alveiy su aplicación en ictiopatología. Tesis Profesional. Universidad de las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria.
- Pal, A., & Paul, A. (2008). Microbial extracellular polymeric substances: central elements in heavy metal bioremediation. *Indian journal of microbiology*, 48(1), 49-64. doi: <https://doi.org/10.1007/s12088-008-0006-5>
- Palaniswamy, C.; Selvaraj, D. R.; Selvaraj, T. (2009). Gangrenous Cholecystitis Caused by *Hafnia alvei*: A Case Report and Review of Literature. *Journal of the American Medical Directors Association*, 10(5), 361–363. doi: 10.1016/j.jamda.2009.03.005

Pang, C.; Liua, Yun-Hai; Cao, Xiao-Hong; Li, Min; Huang, Gou-Lin; Hua, Rong; Wang, Cai-Xia; Liu, Ya-Ting; An, Xiao-Fu. (2011). Biosorption of uranium (VI) from aqueous solution by dead fungal biomass of *Penicillium citrinum*. *Chemical Engineering Journal*, 170, 1-6. doi: 10.1016/j.cej.2010.10.068

Paredes Porras, L.F. (2020). *Moctezuma, su arroyo y su puente, tributos a Moctezuma en Tuxtepec*. Recuperado de: <https://www.sabersinfin.com/articulos/de-lo-cotidiano/1678-moctezuma-su-arroyo-y-su-puente-tributos-a-moctezuma-en-tuxtepec>

Park, A. J.; Surette, M. D.; Khursigara, C. M. (2014). Antimicrobial targets localize to the extracellular vesicle-associated proteome of *Pseudomonas aeruginosa* grown in a biofilm. *Frontier in Microbiology*, 5(5), 1-12. doi: 10.3389/fmicb.2014.00464

Parvathi, A.; Krishna, K.; Jose, J.; Joseph, N.; Nair, S. (2009). Biochemical and molecular characterization of *Bacillus pumilus* isolated from coastal environment in Cochin, India. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 269-275.

Pau, C.G.; Leong, C.T.S.; Wong, S.K.; Eng, L.; Jiwan, M.; Kundat, F.R.; Aziz, Z.F.B.A.; Ahmed O.H.; Majid, N.M. (2012). Isolation of Indigenous Strains of *Paecilomyces lilacinus* with Antagonistic Activity against *Meloidogyne incognita*. *International Journal of Agriculture y Biology*, 14, 197–203

Paulo Maya, J., Lozano-Ramos, T., Soto-Galera, E. (2011). "Actualización del inventario de peces dulceacuícolas del río Papaloapan". Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. FM017. México D. F.

Pavlov, Igor N.; Vasaitis, Rimvydas; Litovka, Yulia A.; Stenlid, Jan; Jankovsky, Libor; Timofeev, Anton A.; Menkis, Audrius (2020). Occurrence and pathogenicity of *Corinectria* spp an emerging canker disease of *Abies sibirica* in Central Siberia. *Scientific Reports*, 10(1), 5597–. doi: 10.1038/s41598-020-62566-y

Paz, M. (2020). *Arroyo Moctezuma agoniza ante apatía*. El Imparcial de Oaxaca. Recuperado de: Arroyo Moctezuma agoniza ante apatía | El Imparcial de Oaxaca (imparcialoaxaca.mx)

Pemán, J. & Quindós, G. (2016). Aspectos actuales de las enfermedades invasoras causadas por *Candida* y otros hongos levaduriformes. *Revista Iberoamericana de Micología*, 33, 133-139. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2015.10.001>

Pereira Neves, R.; Rabelo de Carvalho, A. M.; Maria da Silva, C.; Cerqueira Macêdo, D. P.; Gonçalves de Lima-Neto, R. (2019). Pocket Guide to Mycological Diagnosis, Chapter 7. URL: <https://www.researchgate.net/publication/337054132>

Pérez Silva, Rosa M.; Ábalos Rodríguez, Arelis; Gómez Montes de Oca, José M.; Cantero Moreno, Domingo. (2006). Biodegradation of crude oil by *Pseudomonas aeruginosa* AT18 STRAIN. *Tecnología Química*, 26 (1), 70-77

Person, A. K.; Chudgar, S. M.; Norton, B. L.; Tong, B. C.; Stout J. E. (2010). *Aspergillus niger*: an unusual cause of invasive pulmonary aspergillosis. *Journal of Medical Microbiology*, 59, 834-838. doi: 10.1099/jmm.0.018309-0

Pfaller, M. A.; Dickerna, D.J.; Merz, W.G. (2009). Infections caused by non-Candida, non-Cryptococcus yeasts. In: Anaissie, E. J., McGinnis, M. R., Pfaller, M. A. (eds). *Clinical Mycology*. 2nd ed. London: Churchill Livingstone Elsevier; 258–259.

Pineda, M. E. B., & Rodríguez, A. M. G. (2015). Metales pesados (Cd, Cr y Hg): su impacto en el ambiente y posibles estrategias biotecnológicas para su remediación. *Revista I3+, Investigación, Innovación, Ingeniería*, 2(2), 82–112. doi: <https://doi.org/10.24267/23462329.113>

Pitt J.I., Hocking A.D. (2009) *Penicillium* and Related Genera. In: *Fungi and Food Spoilage*. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2_7

Piver, Warren. (1992). Contamination and Restoration of Groundwater Aquifers. *Environmental Health Perspectives*. 100: 237-247. doi: 10.1289/ehp.93100237

Plabutong, N.; Ekronarongchai, S.; Niwetbowornchai, N.; Edwards, S. W.; Virakul, S.; Chiewchengchol, D.; Thammahong, A. (2020). The Inhibitory Effect of Validamycin A on *Aspergillus flavus*. *International Journal of Microbiology*, 2020, 1-12. doi: <https://doi.org/10.1155/2020/3972415>

Price, S. M.; Classen, J. J.; Payne, G. A. (2001). *Aspergillus niger* absorbs copper and zinc from swine wastewater. *Bioresource Technology*, 77, 41-49. doi: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00135-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00135-8)

Prithviraj, B.; Bais, H. P.; Weir, T.; Suresh, B.; Najarro, E. H.; Dayakar, B. V.; Schweizer, H. P.; Vivanco, J. M. (2005). Down Regulation of Virulence Factors of *Pseudomonas aeruginosa* by Salicylic Acid Attenuates Its Virulence on *Arabidopsis thaliana* and *Caenorhabditis elegans*. *Infection and Immunity*, 73(9), 5319–5328. doi: 10.1128/iai.73.9.5319-5328.2005

Pulido-Hernández, B. A. (2022). Efecto de la exposición a Mercurio y Cadmio en la actividad de la enzima Glutación S-Transferasa de las especies *Hafnia alvei*, *Candida parapsilosis*, *Penicillium sp* y *Rattus norvegicus* (Wistar). Tesis de Maestría (*en proceso*). Universidad de Papaloapan, Campus Tuxtepec. San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca.

R. Sharma, R. Bhardwaj, V. Gautam, S.K. Kohli, P. Kaur, R.S. Bali, P. Saini, A.K. Thukral, S. Arora, A.P. Vig. (2018). Microbial Siderophores in Metal Detoxification and Therapeutics: *Recent Prospective and Applications, Plant Microbiome: Stress Response, Springer*, 337–350.

Raja, C.E.; Anbazhagan, K.; Selvam, G.S. (2006) Isolation and Characterization of a Metal-resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strain. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 22, 577–585. doi: <https://doi.org/10.1007/s11274-005-9074-4>

Raja, Chellaiah Edward; Omine, Kiyoshi (2012). Characterization of boron resistant and accumulating bacteria *Lysinibacillus fusiformis* M1, *Bacillus cereus* M2, *Bacillus cereus* M3, *Bacillus pumilus* M4 isolated from former mining site, Hokkaido, Japan. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 47(10), 1341–1349. doi: 10.1080/10934529.2012.672299

Ramadan, S. E.; Razak, A. A.; Yousseff, Y. A.; Sedky, N. M. (1988). Selenium Metabolism in a Strain of *Fusarium*. *Biological Trace Element Research*, 18, 161-170.

Ramírez Díaz, M.I., Riveros Rosas, H., Campos García, J., Cervantes, C. (2009). Reducción bacteriana de cromo hexavalente: mecanismos y aplicaciones. *REB*. 28: 73-79.

Ramos, J. (2020). Microbiología de *Hafnia alvei*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 38: 1-6. doi: 10.1016/j.eimc.2020.02.001

Rentería-Martínez, M.E.; Guerra-Camacho, M.A.; Ochoa-Meza, A.; Moreno-Salazar, S.F. (2019). Descripción y comparación entre morfotipos de *Fusarium brachygibbosum*, *F. falciforme* y *F. oxysporum* patogénicos en sandía cultivada en Sonora, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 37(1), 16-34. doi: <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1808-1>

Reyes-Ocampo, I.; González-Brambila, M.; López-Isunza, F. (2013). Un análisis del metabolismo de *Aspergillus niger* creciendo sobre un sustrato sólido. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12(1), 41-56. URL: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62028007005>

Ríos del planeta. (2020). *Río Papaloapan: ubicación, mapa y todo lo que necesita conocer*. Recuperado de: <https://riosdelplaneta.com/rio-papaloapan/>

Rodríguez, L. A.; Vivas, J.; Gallardo C. S.; Acosta, F.; Barbeyto, L.; Real F. (1999). Identification of *Hafnia alvei* with the MicroScan WalkAway system. *Journal Clinical Microbiology*, 37(12), 4186-4188. doi: <https://doi.org/10.1128/JCM.37.12.4186-4188.1999>

Rodríguez-Robledo, M. M. (2022). Aislamiento y caracterización de bacterias tolerantes a metales pesados provenientes de ambientes contaminados. Tesis Profesional (*en proceso*), Universidad de Papaloapan, Campus Tuxtepec. San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca.

Romanowska, E. (2000). Immunochemical aspects of *Hafnia alvei* O antigens. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 27(3), 219–225. doi: 10.1111/j.1574-695x.2000.tb01433.x

Romero, M. C. (2006). Biosorption of heavy metals by *Talaromyces helicus*: a trained fungus for copper and biphenyl detoxification. *Electronic Journal of Biotechnology*, 9(3), 221-226.

Rosen, B. (1996). Bacterial resistance to heavy metals and metalloids. *JBIC*. 1: 273-277. doi: <https://doi.org/10.1007/s007750050053>

Ross, I. (1975). Some effects of heavy metals on fungal cells. *Trans. Br. mycol. Soc.* 64: 175-193.

Rossiana, N., *et al.* (2018). Morphological characteristics of *Talaromyces sp.*, *Cladosporium sp.* and *Penicillium sp.* as microfungi in biodegradation of oil sludge using scanning electron microscope (SEM). *Journal of Bacteriology Mycology: Open Access*, 6(6), 330-333. doi: 10.15406/jbmoa.2018.06.00229

S.-H. Liu, G.-M. Zeng, Q.-Y. Niu, Y. Liu, L. Zhou, L.-H. Jiang, X.-F. Tan, P. Xu, C. Zhang, M. Cheng, Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: a mini review, *Bioresour. Technol.* 224 (2017) 25–33.

Saeed, I., Shaheen, S., Hussain, K., Khan, M. A., Jaffer, M., Mahmood, T., ... Khan, F. (2018). Assessment of mold and yeast in some bakery products of Lahore, Pakistan based on LM and SEM. *Microscopy Research and Technique*. doi:10.1002/jemt.23103

- Sagar, G. & Ashok, B. (2012). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Aspergillus niger* and Its Efficacy Against Human Pathogens. *European Journal of Experimental Biology*, 2(5), 1654-1658.
- Samaniego Branstetter, J.C. (2015). Efectos de la concentración de carbono y la relación carbono/nitrógeno sobre la producción de conidias de *Paecilomyces lilacinus*. Tesis de licenciatura. Universidad San Francisco de Quito USFQ. Quito.
- Sanchez, V. (2020). *Río Papaloapan "contaminación generalizada", dice Conagua*. Oaxaca, Tuxtepec. Recuperado de: Enlace Veracruz 212: Río Papaloapan "contaminación generalizada", dice Conagua
- Sanchez-Fresneda, Pinto, R. (2013). Caracterización del Gen ATC1 de *Candida parapsilosis*, Clonación, Estudio fenotípico e interacción con el Sistema inmunitario. Tesis doctoral. Universidad de Murcia. Murcia. *Proyecto de Investigación*. URL: <http://hdl.handle.net/10201/30337>
- Santana-Flores, A.; Sánchez-Ayala, A.; Romero-Ramírez, Y.; ToledoHernández, E.; Ortega-Acosta S. Á.; Toribio-Jiménez, J. (2020). Aislamiento e identificación de bacterias tolerantes y bioacumuladoras de metales pesados, obtenidas de los jales mineros El Fraile, México. *Terra Latinoamericana*, 38, 67-75. doi: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.430>
- Sapkota, A. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* - An Overview. *Bacteriology, Microbe Notes*. URL: <https://microbenotes.com/pseudomonas-aeruginosa/>
- Savini, V.; Catavittello, C.; Talia, M.; Balbinot, A.; Febbo, F.; Pompilio, A.; Bonaventura, G. D.; Piccolomini, R.; D'Antonio, D. (2009). Isolation of colistin-resistant *Hafnia alvei*. *Journal of Medical Microbiology*, 58(2), 278–280. doi: 10.1099/jmm.0.001321-0
- Sayeed Akhtar, M. & A. Siddiqui, Z. (2008). *Glomus intraradices*, *Pseudomonas alcaligenes*, and *Bacillus pumilus*: effective agents for the control of root-rot disease complex of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *J Gen Plant Pathology*, 74, 53–60. doi: 10.1007/s10327-007-0062-4
- Schinabeck, M. K & Ghannoum, M.A. (2003). Human Hyalohyphomycoses: A Review of Human Infections Due to *Acremonium* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., and *Scopulariopsis* spp. *Journal of Chemotherapy*, 15(2), 5-15. doi: <https://doi.org/10.1179/joc.2003.15.Supplement-2.5>
- Schinabeck, M. K., & Ghannoum, M. A. (2003). Human hyalohyphomycoses: a review of human infections due to *Acremonium* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., and *Scopulariopsis* spp. *Journal of chemotherapy*, 15(2), 5-15. doi: <https://doi.org/10.1179/joc.2003.15.Supplement-2.5>
- Schuster, E.; Dunn-Coleman, N.; Frisvad, J. C.; M. van Dijck, P. W. (2002). On the safety of *Aspergillus niger* - A review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59, 426-435. doi: 10.1007/s00253-002-1032-6
- Seo, K.; Akiyoshi, H.; Ohnishi, Y. (1999). Alteration of Cell Wall Composition Leads to Amphotericin B Resistance in *Aspergillus flavus*. *Microbiology and Immunology*, 43(11), 1017-1025. doi: 10.11501/3167844
- SENASICA. (2017, 10 noviembre). Meloidogyne incognita parasita plantas de café en Minas Gerais, Brasil. Meloidogyne incognita parasita plantas de café en Minas Gerais, Brasil. Recuperado 12 de diciembre de 2022, de <https://prod.senasica.gob.mx/ALERTAS/inicio/pages/single.php?noticia=2900>

- Shahidul Islam, M., Tanaka M. (2004). Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. *Marine Pollution Bulletin*. 48: 624-649. doi: 10.1016/j.marpolbul.2003.12.004
- Shailubhai, K., N.; Rao, N., V.; Modi, V. (1984). Treatment of petroleum industry oil sludge by *Rhodotorula* sp. *Appl Microbiol Biotechnol*, 19, 437-438.
- Shivalkar Yadav, K. & Prabha, R. (2014). Extraction of Pigments from *Rhodotorula* Species of Dairy Environment. *Indian Journal of Science and Technology*, 7, 1973-1977.
- Silva, S. et al. (2012). *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiol Rev*. 36: 288-305. doi: 10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x
- Silver S, Walderhaug M. Gene regulation of plasmid- and chromosome-determined inorganic ion transport in bacteria. *Microbiol Rev* 56:195-228 (1992). doi: 10.1128/mr.56.1.195-228.1992
- Singh, J., Kalamdhad Ajay, S. (2011). Effects of Heavy Metals on Soil, Plants, Human Health and Aquatic Life. *International Journal of Research in Chemistry and Environment*. 1: 15-21.
- Skatrud, P. L.; Queener, S. W.; Carr, L. G.; Fisher, D. L. (1987). Efficient integrative transformation of *Cephalosporium acremonium*. *Current Genetics*, 12, 337-348. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00405756>
- Skurnik D.; Nucci A.; Ruimy R.; Lasocki S.; Muller-Serieys C.; Montravers P.; Andremont, A.; Courvalin, P. (2010). Emergence of carbapenem-resistant *Hafnia*: the fall of the last soldier. *Clinical Infectious Diseases*, 50(10), 1429–1431. doi: <https://doi.org/10.1086/652289>
- Soler, F. (2020). *Piden entubar aguas del arroyo Moctezuma*. Oaxaca, Tuxtepec. Recuperado de: <https://www.nvinoticias.com/nota/47090/piden-entubar-aguas-del-arroyo-moctezuma>
- Sosa, Y. (2020). *Papaloapan: un cauce que agoniza*. El Universal, Oaxaca. Recuperado de: <https://oaxaca.eluniversal.com.mx/especiales/02-07-2018/el-papaloapan-retiran-veda-un-cauce-que-agoniza-0>
- Stępień Ł (2014) The use of *Fusarium* secondary metabolite biosynthetic genes in chemotypic and phylogenetic studies. *Crit Rev Microbiol* 40:176–185
- Stępień, Ł.; Lalak-Kańczugowska, J.; Witaszak, N.; Urbaniak, M. (2020). *Fusarium* Secondary Metabolism Biosynthetic Pathways: So Close but So Far Away. En J.-M. Mérillon, K. G. Ramawat (Eds.), *Co-Evolution of Secondary Metabolite*, 211-247. *Phytochemistry*. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-96397-6_28
- Sterritt, R., Lester, J. (1980). Interactions of heavy metals with bacteria. *The Science of the Total Environment*. 14: 5-17.
- Suárez, P., Reyes, R. (2002). La incorporación de metales pesados en las bacterias y su importancia para el ambiente. *Interciencia*. 27: 160-164.

Svanström, Å. (2013). Trehalose Metabolism and Stress Resistance in *Aspergillus niger*. Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences.

Szczepan Zapotoczny; Anna Jurkiewicz; Grzegorz Tylko; Teresa Anielska; Katarzyna Turnau (2007). Accumulation of copper by *Acremonium pinkertoniae*, a fungus isolated from industrial wastes, 162(3), 219–228. doi: 10.1016/j.micres.2006.03.008

T. Kulakovskaya, L. Ryazanova, A. Zvonarev, G. Khokhlova, V. Ostroumov, M. Vainshtein, (2018). The biosorption of cadmium and cobalt and iron ions by yeast *Cryptococcus humicola* at nitrogen starvation, *Folia Microbiol*, 1–4.

Tapia, C. & Amaro, J. (2014). Género *Fusarium*. *Rev Chilena Infectol*, 31(1), 85-86.

Tapia, C., & Correa, N. (2015). *Candida parapsilosis* complex. *Revista Chilena de Infectología*, 32(5), 569-570.

Teitzel, G. M. & Parsek, M. R. (2003). Heavy Metal Resistance of Biofilm and Planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(4), 2313–2320. doi: 10.1128/aem.69.4.2313-2320.2003

Teles, A.P. C. & Takahashi, J. A. (2013). Paecilomide, a new acetylcholinesterase inhibitor from *Paecilomyces lilacinus*. *Microbiological Research*, 168, 204-210. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2012.11.007>

Tena, D.; Martínez-Torres, J. Á.; Pérez-Pomata, M. T.; Sáez-Nieto, J. A.; Rubio, V.; Bisquert, J. (2007). Cutaneous Infection Due to *Bacillus pumilus*: Report of 3 Cases. *Clinical Infectious Diseases*, 44, e40-42. doi: <https://doi.org/10.1086/511077>

Thippeswamy, B; Shivakumar, C K; Krishnappa M. (2012) Bioaccumulation potential of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* for removal of heavy metals from paper mill effluent. *Journal of Environmental Biology*; Lucknow Tomo, 33(6), : 1063-8.

Tkavc, R. Matrosova, V. Y.; Grichenko, O. E.; Gostinčar, C.; Volpe, R. P.; Klimentkova, P.; Gaidamakova, E. K.; Zhou, C. E.; Stewart, B. J.; Lyman, M. G.; Malfatti, S. A.; Rubinfeld, B.; Courtot, M.; Singh, J.; Dalgard, C. L.; Hamilton, T.; Frey, K. G.; Gunde-Cimerman, N.; Dugan, L.; Daly, M. J. (2018). Prospects for Fungal Bioremediation of Acidic Radioactive Waste Sites: Characterization and Genome Sequence of *Rhodotorula taiwanensis* MD1149. *Frontier in Microbiology*, 8, 2528. doi: 10.3389/fmicb.2017.02528

Torres, A. (2020). *Piden a Murat rescate del arroyo Moctezuma. Oaxaca, Tuxtepec*. Recuperado de: <https://www.nvinoticias.com/nota/45794/piden-murat-rescate-del-arroyo-moctezuma>

Torres, R.D. (2003). El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos. *Ecosistemas*. <http://www.aeet.org/ecosistemas/032/informe1.htm>

Treviño-Rangel, R. de J.; González-González, J. G.; Garza-González, E.; González, G. M. (2012). *Candida parapsilosis*, una amenaza desafiante. *Medicina Universitaria*, 14, 155-163.

Trisuwan K, Khamthong N, Rukachaisirikul V et al (2010) Anthraquinone, cyclopentanone, and naphthoquinone derivatives from the sea fan-derived fungi *Fusarium* spp. PSU-F14 and PSU-F135. *J Nat Prod* 73:1507–1511

Trofa, D.; Gácsér, A., D. Nosanchuk, J. (2008). *Candida parapsilosis*, an Emerging Fungal Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 21, 606–625. doi: 10.1128/CMR.00013-08

Vázquez-Velasco, L. (2022). Aislamiento y caracterización de cepas de hongos resistentes a metales pesados aislados de aguas contaminadas. Tesis Profesional (*en proceso*). Universidad de Papaloapan, Campus Tuxtepec. San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca.

Vullo, D. (2003). Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente. *Revista Química Viva*. 2: 93-104.

W. Zhang, L. Chen, D. Liu, Characterization of a marine-isolated mercury-resistant *Pseudomonas putida* strain SP1 and its potential application in marine mercury reduction, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 93 (2012) 1305–1314.

Walker, T. S. (2004). *Pseudomonas aeruginosa*-Plant Root Interactions. Pathogenicity, Biofilm Formation, and Root Exudation. *Plant Physiology*, 134(1), 320–331. doi: 10.1104/pp.103.027888

Walsh, G. E. (1978). Toxic effects of pollutants on Plankton. Principles of Ecotoxicology. John Wiley & Sons, Inc., New York. 257-274. PDF. https://scope.dge.carnegiescience.edu/SCOPE_12/SCOPE_12_3.6_chapter12_257-274.pdf

Wang, B.; Han, X.; Bai, Y.; Lin, Z.; Qiu, M.; Nie, X.; Wang, S.; Zhang, F.; Zhuang, Z.; Yuan, J.; Wang, S. (2017). Effects of nitrogen metabolism on growth and aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus flavus*. *Journal of Hazardous Materials*, 324, 691-700. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.11.043>

Wang, T. K. F.; Yam, W.-C.; Yuen, K.-Y.; Wong, S. S. Y. (2006). Misidentification of a Mucoïd Strain of *Salmonella enterica* Serotype Choleraesuis as *Hafnia alvei* by the Vitek GNI+ Card System. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(12), 4605–4608. doi: 10.1128/jcm.01488-06

Wang, Y.; Zhang, C.; Liang, J.; Wang, L.; Gao, W.; Jiang, J.; Chang, R. (2020). Surfactin and fengycin B extracted from *Bacillus pumilus* W-7 provide protection against potato late blight via distinct and synergistic mechanisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10773-y>

Wicklow, D. T.; Roth, S.; Deyrup, S. T.; Gloer, J.B. (2005). A protective endophyte of maize: *Acremonium zae* antibiotics inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. *Mycol. Res.*, 109 (5), 610–618. doi: 10.1017/S0953756205002820

Wikipedia contributors. (2021). *Rhodotorula*. Wikipedia. URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Rhodotorula>

Wikipedia. (2020a). *San Juan Bautista Tuxtepec Oaxaca*. Recuperado de: https://es.wikipedia.org/wiki/San_Juan_Bautista_Tuxtepec

- Wikipedia. (2020b). *Río Papaloapan*. Recuperado de: https://es.wikipedia.org/wiki/R%C3%ADo_Papaloapan
- Wirth, F., Z. Goldani, L. (2012). Epidemiology of *Rhodotorula*: An Emerging Pathogen. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2012, 1-7. doi: 10.1155/2012/465717
- Wu, W.; Yongxin, J.; Bai, F.; Jin, S. (2015). Molecular Medical Microbiology. *Pseudomonas aeruginosa*. Academic Press, 2, 753–767. doi: 10.1016/B978-0-12-397169-2.00041-X
- Xavier, M. O.; Uchoa S., M. da P.; Peixoto C., J. de J.; Pasqualotto, A. C.; Severo, L. C. (2008). *Aspergillus niger* causing tracheobronchitis and invasive pulmonary aspergillosis in a lung transplant recipient: case report. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 41(2), 200-201. URL: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/THv8b6k9gQQgK3LsmFdqC9C/?format=pdf&lang=en>
- Xiao-kui, M.; Ling ling. W.; Hala, F. (2014). Heavy metal ions affecting the removal of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi with heavy-metal resistance. *Appl Microbiol Biotechnol*, 98, 9817-9827. doi: 10.1007/s00253-014-5905-2
- Xu, X.; Xia, L.; Chen, W.; Huang, Q. (2017). Detoxification of hexavalent chromate by growing *Paecilomyces lilacinus* XLA. *Environmental Pollution*, 225, 47-54. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2017.03.039>
- Y. Shi, J. Huang, G. Zeng, Y. Gu, Y. Chen, Y. Hu, B. Tang, J. Zhou, Y. Yang, L. Shi, Exploiting extracellular polymeric substances (EPS) controlling strategies for performance enhancement of biological wastewater treatments: an overview, *Chemosphere* 180 (2017) 396–411.
- Yao, G.; Yue, Y.; Fu, Y.; Fang, Z.; Xu, Z.; Ma, G.; Wang, S. (2018). Exploration of the regulatory mechanism of secondary metabolism by comparative transcriptomics in *Aspergillus flavus*. *Frontiers in Microbiology*, 9(1568), 1-15. doi: 10.3389/fmicb.2018.01568
- Yarlagadda, K.; Shrimanker, I.; Nookala, V. K. (2019). Catheter-associated *Hafnia alvei*-induced Urosepsis. *Cureus*, 11(12), e6471. doi: <https://doi.org/10.7759/cureus.6471>
- Yilmaz, N.; Houbraken, J.; Hoekstra, E.S.; Frisvad, J.C.; Visagie, C.M.; Samson, R.A. (2012). Delimitation and characterisation of *Talaromyces purpurogenus*. *Persoonia*, 29, 39-54. doi: <http://dx.doi.org/10.3767/003158512x659500>
- Yilmaz, N.; Visagie, C. M.; Houbraken, J.; Frisvad, J.C.; Samson, R.A. (2014). Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. *Studies in Mycology*, 78, 175-341. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.simyco.2014.08.001>
- Yin, K., Wang, Q., Lv, M., Chen, L. (2019). Microorganism remediation strategies towards heavy metals. *Chemical Engineering Journal*. 360: 1553-1563.
- Yuan, Y. & Gao, M. (2015). Genomic analysis of a ginger pathogen *Bacillus pumilus* providing the understanding to the pathogenesis and the novel control strategy. *Scientific Reports*. 5(10259), 1-9. doi: 10.1038/srep10259

Zarza, E.; Alcaraz, L. D.; Aguilar-Salinas, B.; Islas, A.; Olmedo-Álvarez, G. (2018). Complete Genome Sequences of Two *Bacillus pumilus* Strains from Cuatrociénegas, Coahuila, Mexico. *American Society for Microbiology*, 6(17), 1-2. doi: <https://doi.org/10.1128/genomeA.00364-18>

Zboinska, E., et al. (1992). Degradation of organophosphonates by *Penicillium citrinum*. *Letters in Applied Microbiology*. 15: 269-272.

Zeng, Xiao-xi; Chai, Li-yuan; Tang, Jian-xin; Liu, Zhi-hui; Yang, Xue-duan. (2013). Taxonomy characterization and cadmium biosorption of fungus strain. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 23, 2759-2765. doi: 10.1016/S1003-6326(13)62794-6

Zhai, Ming-Ming; Li, Jie; Jiang, Chun-Xiao; Shi, Yan-Ping; Di, Duo-Long; Crews, Phillip; Wu, Quan-Xiang. (2016). The Bioactive Secondary Metabolites from *Talaromyces* species. *Nat. Prod. Bioprospect*, 6, 1-24. doi: 10.1007/s13659-015-0081-3