



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Identificación de hongos filamentosos aislados de una
zona endémica de coccidioidomicosis
(Hermosillo, Sonora)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

ADRIANA SILVA HERNÁNDEZ



DIRECTORA DE TESIS:

DRA. en C. LAURA ROSIO CASTAÑÓN OLIVARES

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

1. Datos del alumno

Silva
Hernández
Adriana
55 54 67 14 05
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
311232525

2. Datos del tutor

Dra.
Laura Rosio
Castañón
Olivares

3. Datos del sinodal 1

M. en C.
Guadalupe
Vidal
Gaona

4. Datos del sinodal 2

Biól.
Elva
Bazán
Mora

5. Datos del sinodal 3

Dr.
Sigfrido
Sierra
Galván

6. Datos de sinodal 4

M. en C.
Liliana
Itze
López
Olmedo

7. Datos del trabajo escrito

Identificación de hongos filamentosos en una zona endémica de coccidioidomicosis
(Hermosillo, Sonora).
70 p
2021

Dedicatorias

A mi madre, quien me enseñó todo lo necesario para convertirme en un ser humano responsable, dedicado y con la seguridad de que podía lograr todo cuanto quisiera.

A mi padre, por su esfuerzo de cada día para llevar el sustento a mi familia, por su siempre "sí" ante cualquier necesidad y por su ejemplo.

A mis hermanos: Manuel y Memo, por su apoyo incondicional, por cuidarme y enseñarme el camino.

A mis hermanas: Alejandra, por enseñarme acerca del amor a uno mismo, sobre la amistad, los abrazos y las risas; a Mariana, por su tranquilidad, afecto y empatía.

A mis colegas: Rosario y Néstor, por sus enseñanzas y por compartirme su amor y constancia por la ciencia.

A mi Cosecha, a mi Abue y a mi Cheli, mujeres que se me fueron y me dejaron un recuerdo de que sí puedo.

A las personas de la casa amarilla. Pepe y Guada, gracias por su apoyo y ejemplo constantes.

Agradecimientos

A PAPIIT por el apoyo financiero que me fue otorgado para concluir mi proyecto de tesis, por medio del proyecto IN211115.

A la Dra. Laura Rosio Castañón Olivares, mi tutora, por permitirme construir el tema, por su apoyo y confianza para trabajar en el laboratorio.

Me siento profundamente agradecida con la Biól. Elva Bazán Mora por la asesoría durante el desarrollo de este trabajo, con su conocimiento y amor por su trabajo siempre estuvo acompañándome, guiándome y contagiándome el entusiasmo por los hongos y la investigación científica.

A la Q. F. B. Erika Córdova Martínez por su asesoría en el laboratorio de biología molecular.

Al Dr. Rafael Del Río Salas de la Estación Regional del Noroeste (ERNO), Instituto de Geología, UNAM por su apoyo en el análisis de pH y conductividad eléctrica de los suelos.

A José Enrique Reyes Lira, pasante de la carrera de Geografía Facultad de Filosofía y Letras, UNAM, por su ayuda en la cartografía y diseño espacial de esta investigación.

Al Físico Manuel Silva Hernández por su ayuda en la revisión de los datos de pH y conductividad eléctrica.

A la Dra. Yoli Mariana Medina Romero por su apoyo en la revisión de mi escrito.

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| RESUMEN | 1 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 3 |
| 1.1. Coccidioidomycosis | 3 |
| 1.1.1. Incidencia y Prevalencia | 3 |
| 1.1.2. Factores Bioclimáticos | 4 |
| 1.1.3. Morfología de <i>Coccidioides spp.</i> | 5 |
| 1.2. Hábitat de <i>Coccidioides spp.</i> | 5 |
| 1.2.1. Variables ambientales referidas para las especies del género <i>Coccidioides</i> y sus posibles relaciones con otros organismos | 6 |
| 1.2.2. Aislamiento de <i>Coccidioides spp.</i> de suelo | 8 |
| 1.3. Suelo | 9 |
| 2.- ANTECEDENTES | 10 |
| 2.1. Hongos Filamentosos del Desierto | 11 |
| 2.2. Zona de Estudio, Hermosillo, Sonora | 14 |
| 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 15 |
| 4. JUSTIFICACIÓN | 16 |
| 5. HIPÓTESIS | 17 |
| 6. OBJETIVOS | 18 |
| 6.1. Objetivo General | 18 |
| 6.2. Objetivos Particulares | 18 |
| 7. MATERIALES Y MÉTODOS | 19 |
| 7.1. Zona de estudio | 19 |
| 7.2. Método de Muestreo | 19 |
| 7.3. Análisis Edafológico | 20 |
| 7.4. Cultivo de Suelos | 20 |
| 7.5. Identificación morfológica | 21 |
| 7.5.1. Morfología macroscópica | 21 |
| 7.5.2. Morfología microscópica | 22 |
| 7.5.3. Identificación genómica de la colonia parecida a <i>Coccidioides spp.</i> | 23 |
| 7.6. Conservación de Aislados | 25 |
| 8. RESULTADOS | 26 |
| 8.1. Zona de Muestreo | 26 |
| 8.2. pH y Conductividad Eléctrica de las muestras de suelos | 27 |
| 8.3. Géneros Aislados en Hermosillo | 28 |

| | |
|--|----|
| 8.4. Géneros Aislados en la Localidad de Sahuaro | 30 |
| 8.5. Géneros Aislados en la Localidad de Erno | 31 |
| 8.6. Géneros Aislados en la Localidad de los Arcos | 32 |
| 8.7. Géneros Aislados en la Localidad de Aeropuerto | 33 |
| 8.8. Identificación Morfológica de los Géneros Aislados en Hermosillo | 34 |
| 8.8.1. <i>Absidia</i> spp. | 34 |
| 8.8.2. <i>Acremonium</i> spp. | 35 |
| 8.8.3. <i>Alternaria</i> spp. | 36 |
| 8.8.4. <i>Aspergillus</i> spp. | 37 |
| 8.8.5. <i>Chaetomium</i> spp. | 41 |
| 8.8.6. <i>Chrysosporium</i> spp. | 42 |
| 8.8.7. <i>Cladosporium</i> spp. | 43 |
| 8.8.8. <i>Cunningamella</i> spp. | 44 |
| 8.8.9. <i>Emericella</i> spp. | 45 |
| 8.8.10. <i>Eurotium</i> spp. | 46 |
| 8.8.11. <i>Fusarium</i> spp. | 47 |
| 8.8.12. <i>Malbranchea</i> spp. | 48 |
| 8.8.13. <i>Paecilomyces</i> spp. | 49 |
| 8.8.14. <i>Penicillium</i> spp. | 50 |
| 8.8.15. <i>Trichoderma</i> spp. | 51 |
| 8.8.16. Probables <i>Coccidioides</i> spp. | 52 |
| 8.8.17. Micelio estéril | 53 |
| 8.8.18. Colonias sin identificar | 54 |
| | |
| 9. DISCUSIÓN | 58 |
| | |
| 10. CONCLUSIONES | 63 |
| | |
| 11. PERSPECTIVAS A FUTURO | 65 |
| | |
| 12. REFERENCIAS | 66 |

RESUMEN

La coccidioidomicosis es una infección a menudo intermitente y transitoria del sistema respiratorio en el humano y en otros mamíferos, causada por especies de hongos dimórficos pertenecientes al género *Coccidioides*. En México la mayor morbilidad de la enfermedad se registra en el estado de Sonora, el cual, se ubica dentro del área endémica de la coccidioidomicosis. Se considera que las condiciones ambientales del estado favorecen la presencia del hongo en el suelo y aire de la región.

El aislamiento de *Coccidioides* spp. a partir de suelos de regiones endémicas de coccidioidomicosis, con poca frecuencia ha sido exitoso y, por otra parte, en nuestro país, hay escasos estudios sobre la microbiota de suelos de las zonas de clima seco semiárido y árido, por lo que no se ha establecido la endemidad de los *Coccidioides* y tampoco se conoce la identidad de las colonias que conforman a la comunidad fúngica de la zona.

El objetivo de esta investigación fue identificar los hongos filamentosos cultivables asociados a suelos de una zona de clima seco árido que se encuentra relacionada con la coccidioidomicosis.

Para lo anterior, se obtuvieron muestras de suelos de Hermosillo, Son. y los puntos de colecta fueron elegidos con base en los siguientes criterios: 1) los Sistemas de Información Geográfica y 2) lugares cercanos a las viviendas de población con pruebas de coccidioidina positivas. De cada punto se tomó una muestra de 1 Kg de suelo y se obtuvo el valor de pH y conductividad eléctrica. Asimismo, de cada muestra se tomaron 2 g y se sembraron en cajas Petri con diferentes medios de cultivo. Todas las colonias de hongos filamentosos fueron aisladas y purificadas para poder efectuar su descripción morfológica macro y microscópica y la colonia que reunió características fenotípicas del género *Coccidioides* se analizó por medio de la técnica de PCR anidada de Bialek para confirmar su identidad.

Los valores de pH y Conductividad Eléctrica (CE) de los suelos de los sitios estudiados se hallaron entre 7-10.2 y 60.6 -177.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$, respectivamente. Se identificaron mayor número de colonias de distintos géneros en los valores de pH 7 y CE de 129.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Se aislaron e identificaron colonias pertenecientes a los géneros: *Absidia* sp., *Acremonium* spp., *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Chaetomium* spp., *Chrysosporium* spp., *Cladosporium* sp., *Cunninghamella* spp., *Emericella* spp., *Eurotium* spp., *Fusarium* spp., *Malbranchea* sp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp. y *Trichoderma* sp., además de colonias de micelio estéril. No se aislaron colonias pertenecientes al género *Coccidioides*.

Se observó que, aunque las cuatro zonas muestreadas presentan características ecológicas referidas para el género *Coccidioides* y son parte de una zona endémica de la coccidioidomycosis no se aislaron colonias del hongo, por lo que se concluye que pueden existir motivos abióticos que impiden el establecimiento y desarrollo de *Coccidioides* en suelos de la región o que los organismos requieren de estímulos específicos *in vitro* para desarrollarse y generar arthroconidios.

Como en otros estudios, se confirma la alta frecuencia de colonias pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Chaetomium*. Este estudio permitió identificar la presencia de *Trichoderma* sp., la cual no se considera típica de suelos del desierto. Indicio de que las condiciones ambientales están cambiando y permitiendo la redistribución espacial de ciertos organismos no nativos.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Coccidioidomycosis

La coccidioidomycosis es una micosis causada por especies de hongos dimórficos pertenecientes al género *Coccidioides*. La forma clínica más frecuentemente observada es la pulmonar, ésta inicia con un cuadro respiratorio agudo, en general benigno con cura espontánea; sin embargo, puede evolucionar hacia formas clínicas progresivas que se diseminan a los tejidos (Larone, 2011; St-Germain y Summerbell, 2011). Las localizaciones extrapulmonares más frecuentes son los ganglios linfáticos, huesos, piel, hígado, bazo y sistema nervioso central, causantes de una alta morbilidad y comúnmente están asociadas a pacientes inmunocomprometidos (Castañón *et al.*, 2004; Larone, 2011).

El hongo infecta principalmente a mamíferos, incluyendo a los humanos, aunque no se transmite de persona a persona. Los artroconidios presentes en el suelo se dispersan por el viento para su propagación y representan las partículas infectantes, por lo que la coccidioidomycosis se adquiere principalmente por vía respiratoria y muy raras veces por vía cutánea a través de heridas (Baptista *et al.*, 2007; Verduzco, 1971).

1.1.1. Incidencia y Prevalencia

En Estados Unidos se calculan de 45 000 a 100 000 casos por año de coccidioidomycosis, de los cuales solo el 50% se diagnostica (St-Germain y Summerbell, 2011). En México, la primera mención del padecimiento fue hecha en 1933 por Cícero, el caso perteneció a un trabajador mexicano que adquirió la enfermedad y fue diagnosticado en Los Ángeles, California. En 1949 se reportó el primer caso autóctono ocurrido en Hermosillo, Sonora (González, 1968).

Se reportaron 63 casos durante el lapso de 2006 a 2013 en el Hospital General del Estado de Sonora, diagnosticando en promedio 7.8 casos por año (Trejo, 2015). En el periodo de 2007 a 2017 fueron registrados en la clínica del Hospital Infantil del Estado de Sonora un

total de 68 pacientes con diagnóstico de coccidioidomicosis, datos con los cuales se obtuvo el promedio de 5.6 casos por año (Barragan, 2018).

Respecto a la prevalencia, en 1965 González-Ochoa realizó una encuesta nacional mediante la prueba de intradermorreacción con la cual se establecieron tres zonas endémicas: zona norte, litoral del pacífico y zona central (González, 1968; Castañón *et al.*, 2004).

En un estudio realizado a 243 personas residentes del estado de Sonora, se encontró que el 64% de los residentes fueron positivos a esferulina y el 41% a coccidioidina (Levine *et al.*, 1973). Castañón-Olivares y cols., en Hermosillo, Son. observaron que de un total de 418 personas a las que se les realizó la prueba de intradermorreacción a la coccidioidina durante el periodo de noviembre de 2015 a noviembre de 2016, 51.4% de ellas resultaron positivas (Castillo *et al.*, 2019).

1.1.2. Factores Bioclimáticos

Los estudios bioclimáticos han corroborado que la precipitación pluvial es una variable ambiental importante relacionada con el aumento en el número de casos clínicos reportados de coccidioidomicosis (Maddy y Coccozza, 1964). Tomando en cuenta diversos factores bioclimatológicos señalaron, en México, como estados con grandes áreas con potencial de propagación para *C. immitis* a Sonora, Baja California, Chihuahua, Coahuila y Nuevo León. Aparentemente, los brotes epidémicos de la enfermedad aparecen uno o dos años después de anomalías meteorológicas relacionadas con el aumento en la precipitación pluvial, después de un periodo de sequía. Para su desarrollo en el suelo *Coccidioides* spp. requieren de la humedad en el ambiente, al ser organismos poiquilohídricos tienen un mejor desarrollo después de las lluvias, por lo que ésta es una de las variables ambientales más importantes en relación con tasas de incidencia y brotes epidémicos de la enfermedad (Baptista *et al.*, 2010; Ortiz *et al.*, 2015).

1.1.3. Morfología de *Coccidioides* spp.

La morfología macroscópica de la colonia entre 25-37°C de temperatura y creciendo en medio sólido Agar Dextrosa Sabouraud presenta una textura de lanuda a glabra, puede ser de color blanco, beige, rosa, amarillo o marrón y el medio de cultivo puede tornarse naranja o marrón oscuro al reverso de la colonia (St-Germain y Summerbell, 2011).

La apariencia microscópica de la colonia creciendo a 25°C son hifas septadas, hialinas, artroconidios unicelulares, rectangulares (con 3-4 x 3-6 µm de diámetro, ligeramente mayor que el de las hifas) en forma de barril, que se alternan con células vacías (disyuntores) y presentan el fenómeno de rexolisis. Los artroconidios son liberados por la lisis de los disyuntores reteniendo un volante anular que se conforma por restos de pared celular en los extremos. Su aspecto microscópico a 42°C en medios especiales o a 37°C en tejido infectado son esférulas (10-80 µm de diámetro) que contienen endosporas (2-5 µm de diámetro) (St-Germain y Summerbell, 2011).

1.2. Hábitat de *Coccidioides* spp.

Las especies del género *Coccidioides* presentan una distribución espacial limitada al continente americano. En Norteamérica, los Estados Unidos presentan como reservorio natural los estados de Arizona, California, Nevada, Nuevo México, Texas y Utah, en México se encuentran en los estados de Baja California, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas, en la parte norte, para la zona central los estados que las presentan son San Luis Potosí, Durango, Colima y Sonora (Figura 1), además de encontrarlas en Guatemala y Nicaragua y áreas dispersas en América del Sur como Argentina y Brasil (Catalán *et al.*, 2014; Fisher *et al.*, 2007; Welsh *et al.*, 2012).

Las *Coccidioides* spp., como otros hongos, están presentes en sitios de crecimiento y sitios de acumulación. Los sitios de acumulación pueden, evolucionar a sitios de crecimiento, si las condiciones ambientales necesarias están presentes para el desarrollo y si los artroconidios están protegidos de condiciones ambientales o biológicas adversas. En muchas ocasiones la viabilidad de los artroconidios (especialmente en o cerca de la

superficie del suelo) puede ser destruida por la exposición al calor excesivo, la luz ultravioleta o la falta de humedad. Cabe resaltar que ambos sitios pueden ser fuentes de infección para los mamíferos en cualquier época del año bajo las condiciones adecuadas para este patógeno fúngico (Fisher *et al.*, 2007).

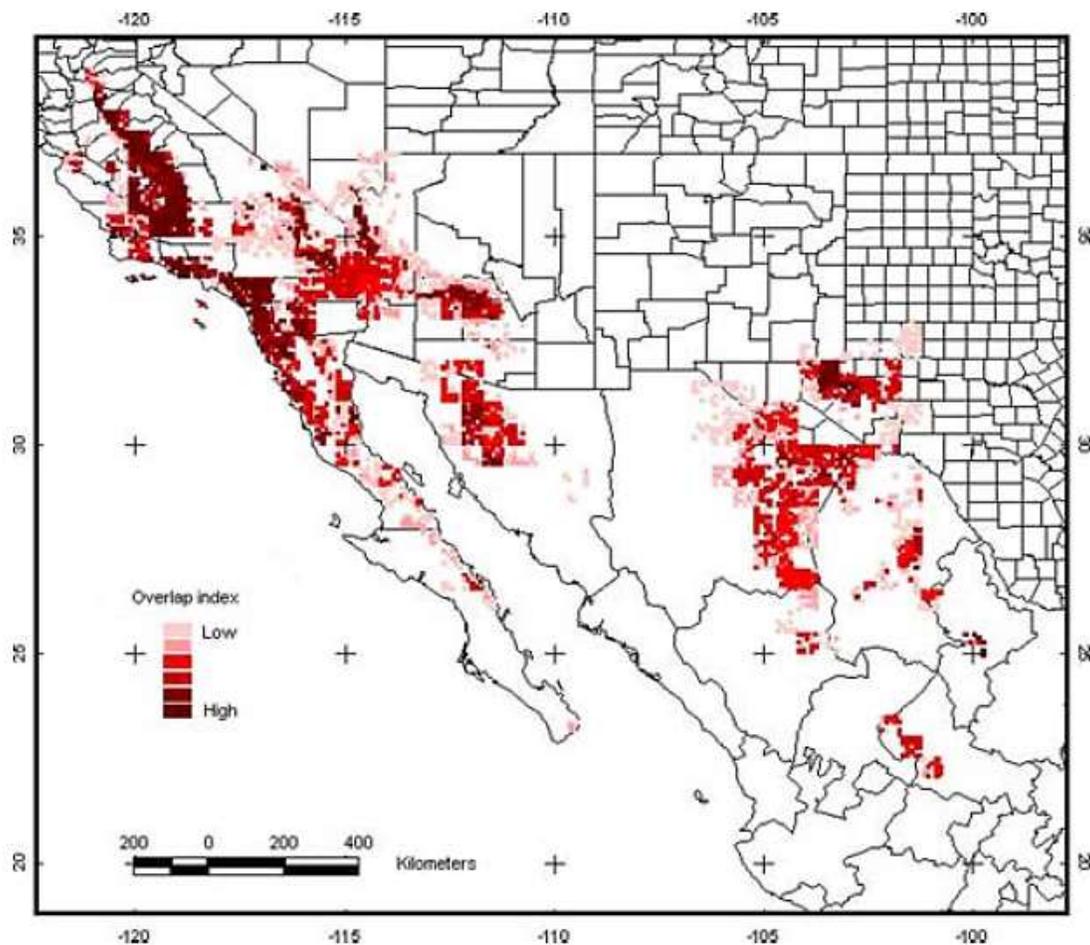


Figura 1. Modelado de nicho ecológico de *Coccidioides* spp. en América del Norte (Baptista *et al.*, 2007).

1.2.1. Variables ambientales referidas para las especies del género *Coccidioides* y sus posibles relaciones con otros organismos

Los factores físicos, químicos y biológicos influyen en el crecimiento de las colonias de *Coccidioides* en su hábitat natural. Las variables ambientales como precipitación, humedad, temperatura atmosférica, así como textura, alcalinidad, salinidad (relaciona con la

conductividad eléctrica) y contenido de materia orgánica de los suelos, el grado de exposición a la luz solar y la luz ultravioleta, vinculadas con la pendiente y orientación de los sitios, regulan su supervivencia como saprobio del suelo, además de las interacciones inter e intraespecíficas (Fisher *et al.*, 2007).

La distribución de las especies de *Coccidioides* en el medio ambiente se consideró reducida debido a la competencia con bacterias y otros hongos. Se llegó a considerar que en los suelos propicios para el desarrollo de *C. immitis*, este organismo era inhibido por los microorganismos *Bacillus subtilis* y *Penicillium simplicissimum* durante la época de lluvias y que el crecimiento de estos últimos se inhibía con las condiciones adversas, es decir, cuando la temporada de lluvias pasaba y la temperatura y evaporación aumentaban y con ello la salinidad, *C. immitis* proliferaba, por lo que se considera que en su forma micelial su crecimiento se ve favorecido por el bajo grado de competencia con otros microorganismos del suelo cuando las condiciones se tornan adversas (Rippon, 1982; Fisher *et al.*, 2007; St-Germain *et al.*, 2011).

Se ha informado que las colonias de *Coccidioides* son pobres competidores con otros hongos, ya que en los experimentos en placas de cultivo éstos son inhibidos por otros hongos de rápido crecimiento. Sin embargo, en el ambiente, *Coccidioides* spp. pueden persistir durante muchos años en el mismo lugar y, por lo tanto, deben ser competitivas en determinadas circunstancias (Nguyen *et al.*, 2013).

Los animales relacionados con la presencia de *Coccidioides* spp. en su ambiente natural, en áreas endémicas, son los roedores, ya que se ha podido aislar al hongo a partir de sus tejidos. Estudios de campo previos han identificado a las ratas canguro (*Dipodomys merriami*), los ratones (*Chaetodipus penicillatus*, *Peromyscus eremicus*, *Onychomys torridus*) y las ardillas antílope (*Ammospermophilus harrisi*) como especies relacionadas al microorganismo (Baptista *et al.*, 2007). Asimismo, mediante la prueba de ELISA se han identificado anticuerpos anti-*coccidioides* en diferentes animales silvestres como ratones

venados (*Peromyscus maniculatus*), palo de bosque (*Neotoma lepida*) y perrillos de las praderas del género *Cynomys* (Catalán *et al.*, 2014).

1.2.2. Aislamiento de *Coccidioides* spp. de suelos

En el Cuadro 1 se muestran los rangos favorables para el desarrollo de *Coccidioides* spp. en el suelo, arenas hipertermotérmicas xerófilas arcillosas, con una alta concentración de sal, particularmente de Sulfato de Calcio y Boro, y temperaturas medias superiores a 22°C (Fisher *et al.*, 2007; Rippon, 1982).

En áreas desérticas del suroeste de EEUU *Coccidioides* spp. han sido aisladas principalmente de suelos de madrigueras de roedores o identificadas indirectamente mediante extracción de ADN de esos suelos. La recuperación de estos microorganismos es más efectiva cuando se inoculan suelos, aparentemente contaminados por el hongo, en animales de laboratorio que sembrando el suelo en medios de cultivo selectivos, aunque con ambas técnicas hay una baja tasa de éxito (Catalán *et al.*, 2014; Swatek y Omieczynski, 1970).

Cuadro 1. Variables ambientales descritas para el género *Coccidioides* (Galeana *et al.*, 2009).

| Variable ambiental | Rango/Valor |
|--------------------|-------------------|
| Precipitación | 0 – 800mm |
| Temperatura | 0 – 24°C |
| pH del suelo | > 7.5 (alcalinos) |
| Textura | Arenosa |
| Pendiente | < 20° (someras) |
| Orientación | Norte |

La evidencia disponible hasta el momento sostiene que las madrigueras de heterómidos en ecosistemas desérticos proporcionan las condiciones ideales para el mantenimiento de diversas especies micóticas, debido principalmente a la humedad relativa que condiciona un microclima dentro de la madriguera. La investigación más reciente sugiere que el enriquecimiento del suelo con materia orgánica animal apoya el desarrollo de diferentes

patógenos fúngicos. Es importante resaltar la ausencia de especies de *Coccidioides* en los bosques de montaña adyacentes a las áreas secas de endemidad. Estas áreas más húmedas albergan los mismos tipos de pequeños mamíferos que los climas secos, pero la coccidioidomicosis no está asociada con estas áreas (Taylor y Barker, 2019).

Aunque han sido exitosos los aislamientos clínicos de colonias de *Coccidioides* spp., la detección en la naturaleza ha tenido baja efectividad, ya que la distribución de los artroconidios es irregular en el suelo y se desconoce la caracterización de su nicho ecológico (Catalán *et al.*, 2014).

1.3. Suelo

El suelo es una interfaz entre la biosfera, litosfera, atmósfera e hidrosfera. Forma un continuo de espesor variable que constituye la cubierta edáfica y presenta tres fases (sólida, líquida y gaseosa). Es uno de los sistemas naturales más complejos, ya que involucra una amplia gama de procesos físicos, químicos y biológicos que operan e interactúan entre sí a grandes escalas espaciotemporales y cambian continuamente en respuesta al suministro de agua, a la temperatura, actividad orgánica, erosión, deposición, perturbaciones (naturales y antropogénicas) y tiempo (Bridge y Spooner, 2001; López *et al.*, 2019; Fisher *et al.*, 2007).

El suelo está constituido por materiales minerales, fragmentos de roca, materiales orgánicos, agua y gases. Se encuentra organizado en horizontes con propiedades físicas (textura, estructura, porosidad, almacenamiento de agua, etc.), propiedades fisicoquímicas y químicas (pH, capacidad de intercambio, almacenamiento de nutrientes, entre otras) y propiedades biológicas (López *et al.*, 2019).

La acidez del suelo es una condición común en las regiones húmedas tropicales, mientras que la condición alcalina predomina en suelos de regiones secas-tropicales (Osorio, 2012). El pH es fundamental para el desarrollo de los hongos, un valor de pH alto afecta la

solubilidad de los metales y uno bajo, los sistemas enzimáticos, el ingreso de vitaminas esenciales y ácidos orgánicos, así como la toma de minerales (López *et al.*, 2003). Ranzoni (1968) realizó un estudio en el desierto de Sonora en el cual evaluó el pH y determinó que los suelos tenían valores entre 6.3 y 9.7, más del 80% de esos suelos presentaban un pH superior a 8.0 y en este tipo de suelos, la disponibilidad de nutrientes para los organismos es un problema (Osorio, 2012).

Otra característica fisicoquímica importante es la conductividad eléctrica (CE) del suelo, la cual, es un indicador de la concentración de sales disueltas, es la capacidad de conducir corriente eléctrica y depende de la cantidad de iones positivos y negativos que se encuentren en la solución del suelo. La CE es una medida afectada por la combinación de contenido de agua del suelo, sales disueltas, arcillas, de su mineralogía y temperatura. Cabe señalar que aumenta conforme lo hace su salinidad y temperatura, y su medida ayuda a conocer de manera indirecta otras propiedades químicas y físicas del suelo en estudio (Pfenning y Abreu, 2000).

2. ANTECEDENTES

Los hongos del suelo juegan un papel clave en los procesos de descomposición, mineralización y reciclado de nutrientes. La mayoría de los hongos del suelo son saprobios y tienen una especificidad limitada por sustratos; por ejemplo, los Zigomicetos usan carbohidratos simples, mientras que los Ascomicetos descomponen principalmente celulosa y hemicelulosa (Pfenning y Abreu, 2000).

En un sitio dado se pueden recuperar hongos cosmopolitas y nativos; en términos generales, se han aislado del suelo de diversos ambientes terrestres un total de 9 a 74 géneros de hongos mitospóricos por cada localidad (Watanabe, 2010). Los hongos mitospóricos son los más frecuentemente aislados de muestras de suelo. Los hongos que se aíslan con mayor frecuencia son los Zigomicetos, colonias del género *Mortierella* son las más comunes, seguidas de *Mucor*, *Rhizopus*, además de *Absidia*, *Cunninghamella*,

Gongronella y *Syncephalastrum*, presentando un crecimiento vigoroso en cultivo axénico (Watanabe, 2010; Pfenning y Abreu, 2000).

Se considera que las colonias de los géneros *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Trichoderma* son hongos que viven comúnmente en el suelo de cualquier lugar, aunque se cataloga a *Mucor* y *Penicillium* como comunes para suelos de áreas templadas o de clima frío (Watanabe, 2010).

2.1. Hongos Filamentos del Desierto

Los ambientes áridos representan más de un tercio de la superficie de la Tierra y se les considera como áreas poli-extremas. Se caracterizan por precipitaciones anuales muy bajas (<250 mm) proporcionadas por lluvias esporádicas y muy impredecibles y/o presencia de niebla, fluctuaciones de temperatura estacional, niveles de radiación ultravioleta extrema, oligotrofia y estrés osmótico al existir elevadas cantidades de sal en el suelo o en las superficies rocosas (Johnson *et al.*, 2017; Sterflinger *et al.*, 2012).

A pesar de las condiciones extremas que presentan las zonas desérticas los microorganismos edáficos son muy diversos, se distribuyen ubicuamente y son críticos para los ciclos biogeoquímicos de estos ecosistemas (Johnson *et al.*, 2017).

Los hongos termófilos como los que habitan en suelos desérticos poseen un repertorio de adaptaciones morfológicas, fisiológicas y moleculares a las altas temperaturas. Estas adaptaciones incluyen esclerocios gruesos, composiciones únicas de membranas lipídicas, síntesis de compuestos protectores que mejoran la estabilidad celular y molecular, posiblemente una rápida maquinaria de transcripción y traducción, además de proteínas y enzimas con mayor estabilidad térmica. La adaptación a altas cantidades de radiación solar se puede observar a través de la acumulación de melaninas (melaninas, feomelaninas y alomelaninas), pigmentos químicamente estables con acción antioxidante contra radicales libres y peróxidos, que proporcionan fotoprotección contra la radiación

ultravioleta y promueven el crecimiento en condiciones muy salinas (Witfeld *et al.*, 2021; Santiago *et al.*, 2018).

En 1960 Durell y Shields (citado en Grishkan *et al.*, 2003) enumeraron 42 especies de hongos en su estudio de los suelos del desierto de Nevada. En 1960 Kuehn (citado en Grishkan *et al.*, 2003) encontró en las dunas de arena de Nuevo México a 77 especies. En 1969 Orr (citado en States, 1978) recopiló 65 especies en suelos del desierto de Utah.

States (1978), presentó una lista de especies de hongos que habitan el suelo, aislados durante un periodo de cuatro años de 20 sitios en siete comunidades del desierto del norte de Arizona y del sur de Utah. Los resultados de la investigación arrojaron 19,000 aislamientos de hongos, representados por 87 géneros y 228 especies. Las colonias aisladas pertenecieron a los géneros: *Penicillium* (con 31 especies), *Aspergillus* (con 20 especies), *Fusarium* (con 6 especies), *Cladosporium* y *Ulocladium* (con 4 especies cada uno). Además de recobrar a especies de *Malbranchea*, *Paecilomyces* y *Trichoderma*.

En un estudio realizado en Assiut, Egipto con 20 muestras de suelo usado para cultivo y 20 de suelo desértico, se aislaron 16 especies de hongos representadas por 10 géneros: *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Emericella*, *Malbranchea*, *Rhizomucor*, *Myriococcum*, *Neosartorya*, *Talaromyces*, *Torula* y Micelio estéril (hialino y oscuro). Las colonias dominantes se incluían en el género *Aspergillus* y la especie mejor representada fue *Aspergillus fumigatus*. Las colonias de *Aspergillus* se aislaron en el 95% de las muestras de suelo para cultivo y en el 100% de suelo desértico, comprendiendo el 22.7 y 77.8% de los hongos, respectivamente (Hemida, 1992).

En el trabajo de Grishkan y cols. (2003) realizado al norte de Israel en una zona semidesértica describieron que en las áreas cubiertas por vegetación la diversidad de hongos fue mayor y se recobró más *Penicillium* spp. que en sitios sin vegetación donde

dominaron hongos con micelio oscuro y esporas de varias células (Samaniego y Chew, 2007).

Se han recuperado 81 aislamientos de hongos asociados con rocas en ocho altitudes diferentes en el desierto de Atacama. Las colonias más frecuentemente aisladas correspondieron a los géneros de *Cladosporium* y *Penicillium*. Además, se identificaron *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Cochliobolus* spp., *Devriesia* spp., *Eupenicillium* spp., *Fusarium* spp., *Pseudogymnoascus* spp., *Hypoxylon* spp., *Macroventuria* spp. y *Neosartorya* spp. (Santiago *et al.*, 2018).

Existen pocos estudios que revelen información sobre la microbiota de suelos en zonas desérticas para México. Ranzoni (1968) realizó un estudio acerca de los hongos del suelo en el desierto de Sonora. En esta investigación se tomaron muestras de suelo de 5 cm de profundidad y superficiales de 24 localidades. Los resultados generaron un recuento de 107 géneros y 229 especies, además de micelios estériles y micelios de basidiomicetos. Los géneros con mayor número de especies fueron: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Chaetomium*.

Samaniego y Chew (2007) realizaron un estudio en la Cuenca "La Laguna" que abarca los estados de Coahuila y Durango, México. En este sitio se estudió la estructura de géneros de hongos en tres campos de cultivo: de nogal, de alfalfa y de algodón; las colonias dominantes en las tres localidades se clasificaron dentro de los géneros *Fusarium*, seguido de *Penicillium* y *Aspergillus*.

Gutiérrez *et al.*, (2018) describieron la abundancia de hongos filamentosos aislados de tres zonas de estudio en Punta Cirio en Sonora, México. Sus resultados arrojaron que las colonias con mayor abundancia para la zona uno, correspondían con el género *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*; para la zona dos dominaban la especie de *Aspergillus niger* y *Penicillium* spp; y para la zona tres *Aspergillus flavus* y *Aspergillus glaucus*.

2.2. Zona de Estudio, Hermosillo, Sonora

El Estado de Sonora representa el 9.1% de la superficie de la República Mexicana. Colinda al norte con Estados Unidos de América; al este con Chihuahua y Sinaloa; al sur con Sinaloa y el Golfo de California; y al oeste con el Golfo de California y Baja California. Hermosillo es la capital del estado con una altitud de 200 m. n. m., presenta una temperatura media anual de 25.3°C, la máxima promedio es de 38°C y se presenta en los meses de junio y julio, la mínima promedio es de 5°C y se presenta en el mes de enero. Registra una precipitación promedio anual de 385.3 mm, siendo el mes de mayo el más seco con 2.3 mm promedio y el mes de noviembre el más húmedo con 300 mm promedio. El tipo de suelo es Leptosol, Cambisol y Phaeozem. El tipo de clima es de muy seco a muy cálido (INEGI, 2017). La Ciudad de Hermosillo, forma parte del desierto sonorense por lo que la vegetación presente es matorral xerófilo, cubriendo una superficie entre los años 2002 a 2005 de 8,530,519.6 hectáreas. Se caracteriza por presentar especies como Mezquite (*Prosopis juliflora*), Palos verdes (*Cercidium microphyllum* y *Parkinsonia aculeata*) y Palo fierro (*Olneya tesota*) entre otras (Araujo *et al.*, 1995; INEGI, 2017).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de pertenecer a la zona endémica de coccidioidomicosis, el estado de Sonora carece de investigaciones actuales relacionadas con el aislamiento de colonias pertenecientes al género *Coccidioides* a partir de su ambiente natural (suelos), ni tampoco se conocen los géneros que conforman la comunidad fúngica de la zona.

4. JUSTIFICACIÓN

El aislamiento de colonias de *Coccidioides* spp. contribuirá a caracterizar las condiciones ecológicas de su hábitat y en consecuencia, identificar las fuentes potenciales de infección para el humano.

Actualizar la identificación de los géneros fúngicos en ambientes desérticos, es un primer paso que podrá apoyar a conocer la composición de especies de distinta afinidad ecológica y geográfica.

El aislamiento e identificación de colonias termófilas, asociadas a un ambiente poliextremo como el presentado en Hermosillo, pueden abrir paso para conocer metabolitos secundarios con actividad biológica.

5. HIPÓTESIS

Debido a que, en Hermosillo, Sonora, se han registrado casos humanos de coccidioidomicosis y de personas sanas reactivas a la coccidioidina, se espera el aislamiento exitoso de *Coccidioides* spp. a partir de los suelos de la región.

Dado que en otros lugares con las mismas características de clima seco se han aislado colonias pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Chaetomium* y *Cladosporium*, se espera que en los sitios estudiados se obtengan colonias similares.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo General

Investigar la biota fúngica filamentosa cultivable de muestras de suelo de Hermosillo, Son., zona endémica de coccidioidomicosis.

6.2. Objetivos Particulares

- Aislar a *Coccidioides* spp. en las muestras de suelo colectadas.
- Cultivar los organismos fúngicos que prevalecen en zonas de clima seco.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Zona de Estudio

En total se definieron ocho zonas de muestreo, las cuales fueron determinadas por dos métodos:

- 1) Utilizando los Sistemas de Información Geográfica. Se consideraron seis capas cartográficas (ph y textura del suelo, precipitación, temperatura, pendiente y orientación de la zona), que según la bibliografía definen los sitios con características ambientales para el aislamiento de colonias de hongos pertenecientes a *Coccidioides*. El análisis de la cartografía permitió elaborar un mapa predictivo sobre el cual se eligieron algunos sitios con potencial para el aislamiento de *Coccidioides* spp., tomando en cuenta la facilidad de acceso para la obtención de muestras de suelo.
- 2) De acuerdo con los resultados obtenidos de la aplicación de la intradermorreacción a la coccidioidina (IDC) en noviembre de 2015 y mayo y noviembre de 2016 en un estudio hecho por Castañón-Olivares y cols. (datos no publicados). Debido a que la encuesta fue efectuada en la zona urbana de Hermosillo, se tomaron muestras de suelo de terrenos baldíos o con vegetación, lugares no pavimentados ubicados lo más cercano (a menos de 1 Km) de las viviendas de las personas que resultaron positivas a la IDC.

7.2. Método de Muestreo

Cada punto de muestreo se conforma por una muestra simple de 1 kg (una sola extracción de suelo) que se obtuvo a 30 cm de profundidad con barreno y pala. Cada muestra se colocó en una bolsa de plástico limpia y nueva, que se etiquetó con la fecha, nombre y la geo-referencia del lugar, dicho dato obtenido mediante un equipo de sistema de navegación satelital (GPS). Las muestras fueron transportadas al laboratorio ubicado en Ciudad de México a temperatura ambiente y se mantuvieron resguardadas hasta su procesamiento.

7.3. Análisis Edafológico

Se siguieron los métodos sugeridos en la NOM-021-SEMARNAT-2000 Metodologías de Análisis de Suelo en México (antes NOM-021-RECNAT-2000) bajo el método 9045C de la US-EPA, 1995. Previo al análisis, las muestras se secaron y tamizaron (< 2 mm). La determinación del pH se realizó por medio de un análisis de sobrenadantes, las muestras fueron homogeneizadas y colocadas en una relación de sólido agua de 1:5. La cual consiste en tomar una porción de la muestra de 1 g y diluir en 50 ml de agua desionizada. Posteriormente se procedió a agitar la muestra durante una hora. Por último, se dejó reposar la solución durante 30 min y se tomó la medición del pH. Para determinar la Conductividad Eléctrica, el equipo fue calibrado con la solución de 1,413 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Para ambas lecturas se utilizó un medidor SympHony™ Benchtop Meters modelo B30PCI.

7.4. Cultivo de muestras de suelos

Método de aislamiento de dilución en placa de Warcup (1951): Por cada muestra se tomaron 2 g de suelo y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 100 ml con 30 ml de agua destilada estéril y perlas de vidrio estériles. La muestra se homogenizó en Vortex® por 5 min. Posteriormente, aún en agitación, se tomó 1.5 ml de solución y se colocó en un tubo Eppendorf® de 2.0 ml estéril. Se continuó a realizar una dilución, para ello se tomaron 15 μl y se depositaron en un tubo Eppendorf® de 1.5 ml que contenía 1,485 μl de agua destilada estéril, para obtener la concentración 1:10, todo esto bajo condiciones estériles en una campana de flujo laminar.

Las muestras fueron sembradas en cajas Petri de 190 x 15 mm estériles con los siguientes medios de cultivo: Agar Extracto de Malta (AEM), Agar Papa Dextrosa (APD), Agar Mycosel® y Agar Czapeck, cada caja se inoculó con 30 μl de muestra, la cual se extendió con un asa de siembra estéril. A excepción de Agar Mycosel®, el resto de los medios de cultivo fueron adicionados con Ciprofloxacino 25 mg/ml y Estreptomina 50 mg/ml.

Cada una de las muestras se sembró en los cuatro medios de cultivo por duplicado y en dos concentraciones: 1:1 y 1:10. Los cultivos se incubaron en condiciones controladas de luz con un fotoperiodo de luz oscuridad 12 h / 12 h y con una temperatura de 28°C. Los cultivos se revisaron desde el día 1 hasta cumplir 10, con excepción de los cultivos en Agar Mycosel®, los cuales permanecieron hasta 30 días en observación.

Las colonias que se observaron fueron subcultivadas para su purificación, almacenamiento y posterior identificación.



Figura 2. Material para realizar cultivo de muestras en campana de flujo laminar.

7.5. Identificación morfológica.

Con la observación a detalle de las estructuras de las colonias se llevó a cabo la identificación a nivel de género por medio de claves dicotómicas fúngicas de Watanabe (2010) y de St-Germain y Summerbell (2011).

7.5.1 Morfología macroscópica.

Con las colonias purificadas se efectuó la descripción morfológica macroscópica y microscópica. Las características macroscópicas se evaluaron por medio de un microscopio

estereoscópico. Entre las características que se consideraron fueron: a) color del anverso y reverso de la colonia; b) apariencia; c) consistencia; d) tipo de crecimiento; e) presencia de exudado y f) presencia de pigmentos difusibles en el medio de cultivo.

7.5.2 Morfología microscópica.

En el caso de la descripción morfológica microscópica las características que se evaluaron para poder llegar a identificar a nivel de género fueron las siguientes: a) hifas cenocíticas o septadas; b) hifas hialinas o pigmentadas; c) presencia de conidióforos o cuerpos fructíferos; d) presencia de conidios/esporas o micelio estéril y e) otras estructuras morfológicas. La identificación microscópica se llevó a cabo con dos técnicas: 1) cinta adhesiva adicionada con azul de lactofenol, safranina o agua, según fuera el caso; 2) microcultivo: la cual consistió en colocar en una caja de Petri con medio de cultivo APD, en la cual previamente se realizaron cortes de cuadros de 1cm x 1cm aproximadamente, inóculos del hongo y posteriormente un cubreobjetos previamente esterilizado con el fin de que al pasar los días el hongo creciera pegado al cristal permitiendo una mejor observación de sus estructuras de reproducción y características en general. Después de 3, 5 y 7 días de incubación se retiraron los cubreobjetos y se tiñeron con azul de lactofenol o safranina para la observación de las estructuras fúngicas; un ejemplo de la técnica de microcultivo se muestra en la Figura 3. Los organismos que no presentaron estructuras de reproducción se determinaron como micelio estéril pasados los 30 días de cultivo.

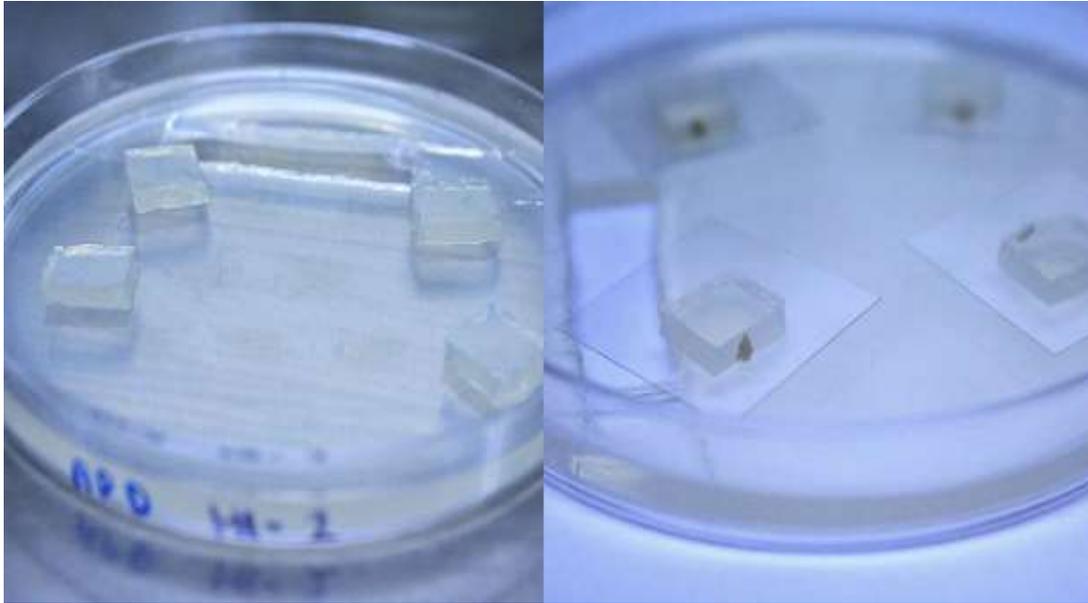


Figura 3. Técnica de microcultivo en medio APD.

Las colonias que durante el proceso de identificación presentaron algunas de las siguientes características macroscópicas y microscópicas fueron trabajadas en condiciones de bioseguridad microbiológica nivel III, debido a que se consideraban sospechosas de ser *Coccidioides* spp.

- Superficie húmeda, algodonosa o de filamentos largos, de color blanco o tonos marrón.
- Reverso blanco o marrón.
- Hifas hialinas, septadas y delgadas.
- Hifas con artroconidios en disposición clásica por su origen holotálico.
- Conidios en forma de barril con o sin segmentos de pared en sus extremos con dimensiones de 2.5-4 x 3-6 micras.

7.5.3 Identificación genómica de la colonia parecida a *Coccidioides* spp.

La colonia que reunió esas características fenotípicas, se le aplicó una prueba de confirmación de identidad, mediante análisis genómico a través de la PCR anidada de Bialek *et al.*, 2004:

1. En un tubo de vidrio con medio de cultivo Mycosel® se incubó a la colonia por 10 días, con una temperatura de 28 °C y un fotoperiodo 12 h /12 h luz oscuridad.
2. Se colocó agua destilada estéril al cultivo y con un asa micológica se desprendió el micelio y artroconidios.
3. Por medio de una pipeta de bulbo estéril se recuperó el líquido que contenía la muestra biológica y se depositó en tubos Eppendorff® de 2 ml.
4. Las muestras fueron centrifugadas a 10,000 rpm durante 5 minutos.
5. Se decantó el sobrenadante y el micelio se depositó en un tubo para el lisador de células Fast-Prep® con perlas y buffer AP1 (400 µl) y se adicionó 4 µl de solución madre de RNA asa.
6. La extracción de ADN fue elaborada siguiendo las instrucciones del DNeasy Plant® Mini Kit, Qiagen.
7. La presencia de ADN, se confirmó mediante electroforesis.
8. Los cebadores que se utilizaron para la amplificación de la región externa fueron: Cocci I (5'-GTACTATTAGGGAGGATAATCGTT-3') y Cocci II (5'-GGTGCTCAACTGGTGGGATGTCAAT-3') obteniendo un producto de 526 pb. Los cebadores que se utilizaron para la región interna: Cocci III (5'-ATC CCA CCT TGC GCT GTA TGT TCG A-3') y Cocci IV (5'-GGAGACGGCTGGATTTTTTAACATG-3') obteniendo un producto de 342 pb. Las condiciones de reacción para la región interna con un volumen final de 10 µL fueron: 0.65 µL de agua nanopura, 1.5 µL de 10X Buffer (Sigma), 3.0 µL de dNTP's 1 mM, 0.9 µL de MgCl₂ 25 mM, 0.3 µL de cada cebador a 10 µM, 0.2 µL de BSA, 0.15 µL de Taq DNA Polimerasa (Sigma) 5U y 3 µL de DNA genómico. El perfil de temperatura para la PCR consistió de 1 ciclo de desnaturalización a 94°C por 5 min, 35 ciclos de 94°C por 30 s, 50°C por 30 s y 72°C por 60 s, finalizando con 1 ciclo de extensión a 72°C por 5 min. Las condiciones de reacción para la región externa con un volumen final de 10 µL fueron: 1.65 µL de agua nanopura, 1.5 µL de Buffer (Sigma) 10X, 3.0 µL de dNTP's 1 mM, 0.9 µL de MgCl₂ 25 mM, 0.3 µL de cada cebador a 10 µM, 0.2 µL de BSA, 0.15 µL de Taq DNA Polimerasa (Sigma) 5U y 2 µL de producto del PCR de la región externa. El perfil de

temperatura para la PCR fue de 1 ciclo de desnaturalización a 94 °C por 5 min, 30 ciclos de 94°C por 30 s, 60°C por 30 s y 72°C por 60 s, finalizando con 1 ciclo de extensión a 72°C por 5 min. Se realizó electroforesis en gel de agarosa de 1.4% agregando 3 µL de producto del PCR y 1 µL de azul de bromofenol 10X por un período de 20 min a 80V. Se tiñó con GelStar® Nucleic Acid Gel Stain y se observó en transiluminador.

7.6. Conservación de Aislados

Para la conservación se empleó la técnica de Castellani (De Capriles, *et al.*, 1989) modificada que consistió en tomar una muestra de conidios y suspenderla en 4 ml de solución salina isotónica, en viales de vidrio estériles y sellados, se almacenaron a temperatura ambiente.

8. RESULTADOS

8.1. Zona de Muestreo

De acuerdo a la cartografía diseñada, en la Figura 4 se muestra el mapa predictivo en el municipio de Hermosillo, con las zonas de alta probabilidad de aislamiento de *Coccidioides* spp. En color verde muestra aquellos lugares donde coinciden cinco de las seis variables ambientales referidas para el género y en rojo dónde se encuentran seis. Dentro del círculo, se incluye la presencia de personas positivas a la coccidioidina.



Figura 4. Mapa del municipio de Hermosillo. Las zonas verdes y rojas son las áreas predictivas para encontrar *Coccidioides* spp. Dentro del círculo se encuentran las localidades aledañas a las personas positivas a la coccidioidina.

Los ocho puntos de muestreo estuvieron contemplados en cuatro zonas geográficas denominadas: Sahuaro (H1, H2, H3 y H4), ERNO (H5), Los Arcos (H6) y Aeropuerto (H7, H8) (Cuadro 1). Sahuaro, Erno y Los Arcos se seleccionaron por ser localidades cercanas a personas que resultaron positivas a la coccidioidina, en cambio, la zona Aeropuerto se escogió por presentar cinco de las seis variables ambientales asociadas con el género *Coccidioides*, otras áreas con las cinco o seis condiciones ambientales del mapa no fueron muestreadas debido a que la accesibilidad a los sitios era nula o presentaban condiciones

de riesgo para el personal de trabajo, debido a lo cual no se efectuó el muestreo en esos lugares.

Cuadro 2. Georreferenciación de las muestras estudiadas en Hermosillo, Sonora.

| Localidad | Muestra | Latitud Norte | Longitud oeste |
|------------|---------|---------------|----------------|
| Sahuaro | H1 | 29° 06'11.35" | 111° 0'21.99" |
| | H2 | 29°06'11.49" | 111° 0'23.91" |
| | H3 | 29°06'90.70" | 111° 0'23.80" |
| | H4 | 29° 06'13.45" | 111° 0'23.32" |
| ERNO | H5 | 29° 04'53.99" | 110°58'15.29" |
| Los Arcos | H6 | 29°04'51.55" | 110°58'26.90" |
| Aeropuerto | H7 | 29°08'05.21" | 111°07'59.37" |
| | H8 | 29°08'03.17" | 111°07'59.39" |

8.2. pH, Conductividad Eléctrica de las muestras de suelos

En las ocho muestras el valor de pH osciló entre 7 y 10.2, en cuanto a conductividad eléctrica los valores registrados se encontraron entre 60.6 y 177.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Cuadro 3).

Cuadro 3. Datos de pH y CE de las muestras estudiadas en Hermosillo, Sonora.

| Localidad | Muestra | pH | Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$) |
|------------|---------|------|---|
| Sahuaro | H1 | 9.6 | 82.9 |
| | H2 | 10.2 | 139.7 |
| | H3 | 9.2 | 177.0 |
| | H4 | 9.1 | 115.8 |
| ERNO | H5 | 7.0 | 129.3 |
| Los Arcos | H6 | 9.4 | 79.2 |
| Aeropuerto | H7 | 8.1 | 60.6 |
| | H8 | 8.0 | 65.8 |

8.3. Géneros Aislados en Hermosillo

De los ocho puntos de colecta se aislaron colonias correspondientes a 15 géneros diferentes: *Absidia* spp., *Acremonium* spp., *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Chaetomium* spp., *Chrysosporium* spp., *Cladosporium* sp., *Cunninghamella* sp., *Emericella* spp., *Eurotium* spp., *Fusarium* spp., *Malbranchea* sp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp. y *Trichoderma* sp. además de micelio estéril y colonias sin identificar (Cuadro 4). Se aisló mayor cantidad de colonias en APD y AEM, seguido de Czapect y Mycosel®.

Cuadro 4. Géneros de hongos aislados en ocho puntos de muestreo en Hermosillo, Sonora.

| Localización/Género fúngico | SAHUARO | | | | ERNO | LOS ARCOS | AEROPUERTO | |
|------------------------------|---------|----|----|----|------|-----------|------------|----|
| | H1 | H2 | H3 | H4 | H5 | H6 | H7 | H8 |
| <i>Absidia</i> sp. | | x | | | x | | | |
| <i>Acremonium</i> spp. | | | x | | | | | x |
| <i>Alternaria</i> spp. | | | | x | | x | | |
| <i>Aspergillus</i> spp. | x | x | x | x | x | x | x | x |
| <i>Chaetomium</i> spp. | | x | | x | | | x | x |
| <i>Chrysosporium</i> spp. | | x | | | x | | x | |
| <i>Cladosporium</i> sp. | | x | | | | | | |
| <i>Cunninghamella</i> sp. | | | | | x | | | |
| <i>Emericella</i> spp. | | | x | | x | | | |
| <i>Eurotium</i> spp. | | x | | | x | | | |
| <i>Fusarium</i> spp. | | | | | x | x | x | |
| <i>Malbranchea</i> spp. | | | | | x | | | |
| <i>Paecilomyces</i> spp. | | | | | x | x | | |
| <i>Penicillium</i> spp. | | x | x | x | | | x | |
| <i>Trichoderma</i> spp. | | | | | x | | | |
| Micelio estéril | x | x | x | x | x | x | x | x |
| Total de géneros encontrados | 2 | 8 | 5 | 5 | 11 | 5 | 6 | 4 |
| Colonias sin identificar | | x | | x | | x | x | x |

En las figuras 5 y 6 se describe la riqueza de géneros contrastado con el pH y CE del suelo.

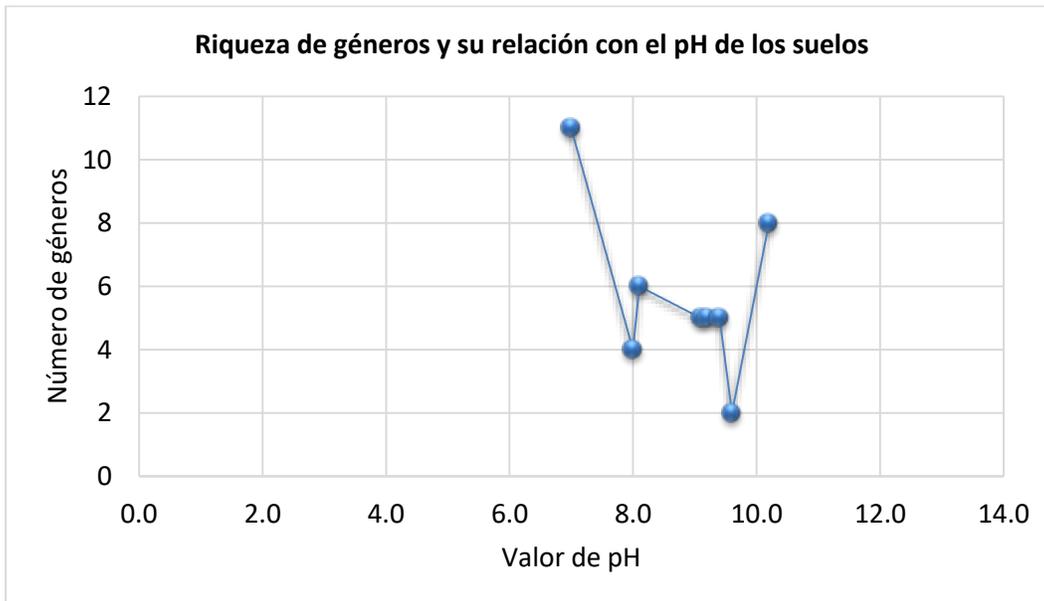


Figura 5. Riqueza de géneros y su relación con el valor de pH de los suelos en los ocho sitios estudiados en Hermosillo.

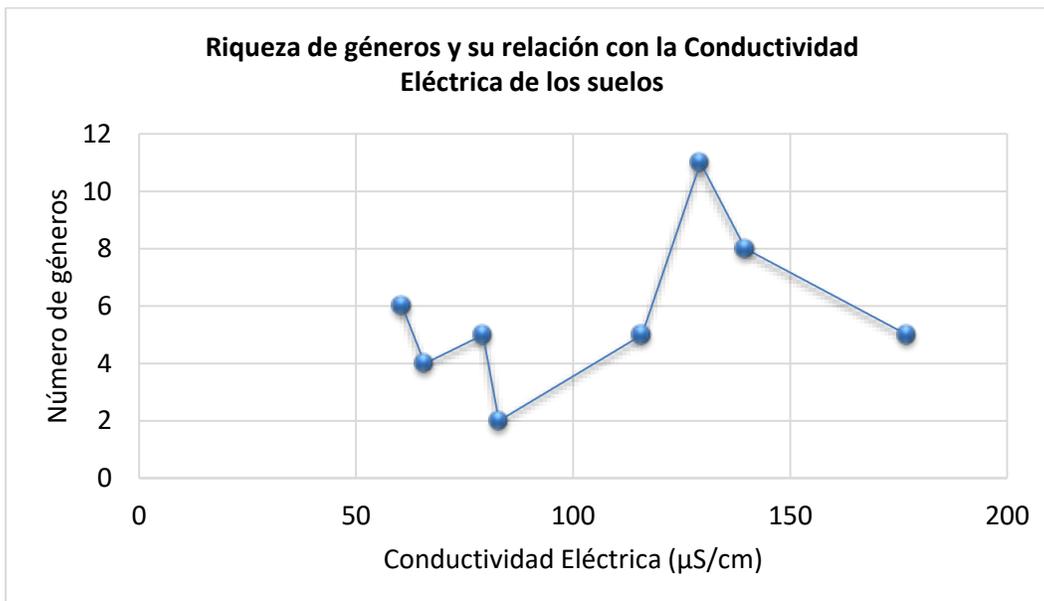


Figura 6. Riqueza de géneros y su relación con la Conductividad Eléctrica en los ocho sitios estudiados en Hermosillo.

8.4. Géneros aislados en la localidad de Sahuaro

Los cuatro puntos de colecta en la localidad (H1, H2, H3, y H4) se muestran en la Figura 7. Se aislaron colonias incluidas en diez géneros: *Absidia* sp., *Acremonium* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus* spp., *Chaetomium* spp., *Chrysosporium* sp., *Cladosporium* sp., *Emericella* spp., *Eurotium* spp., *Penicillium* spp y Micelio Estéril. El punto de colecta que presentó mayor número de colonias de diversos géneros fue H2 con siete. *Aspergillus* spp. se encontraron en todas las muestras, seguidas de *Penicillium* spp. aisladas en tres (H2, H3 y H4) y *Chaetomium* spp. en dos (H2 y H4). Colonias pertenecientes a los géneros *Absidia*, *Acremonium*, *Alternaria*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Emericella* y *Eurotium* solo se obtuvieron de una muestra (Cuadro 4).



Figura 7. Localización de los puntos de colecta de Sahuaro: H1, H2, H3 y H4; en Hermosillo, Sonora, México.

8.5. Géneros aislados en la localidad de ERNO

El punto de colecta en la localidad (H5) se muestra en la Figura 8. Se aislaron colonias incluidas en diez géneros: *Absidia* sp., *Aspergillus* spp., *Chrysosporium* sp., *Cunninghamella* sp., *Emericella* spp., *Eurotium* sp., *Fusarium* spp., *Malbranchea* sp., *Paecilomyces* spp., *Trichoderma* sp. y Micelio Estéril (Cuadro 4).



Figura 8. Localización del punto de colecta de ERNO en Hermosillo, Sonora, México.

8.6. Géneros Aislados en la localidad de Los Arcos

El punto de colecta en la localidad (H6) se muestra en la Figura 9. Se aislaron colonias incluidas en cuatro géneros: *Alternaria* sp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Paecilomyces* sp. y Micelio Estéril (Cuadro 4). Esta localidad se ubica en un parque urbano con cubierta vegetal abundante, lo que representa un mayor aporte hídrico y de materia orgánica.

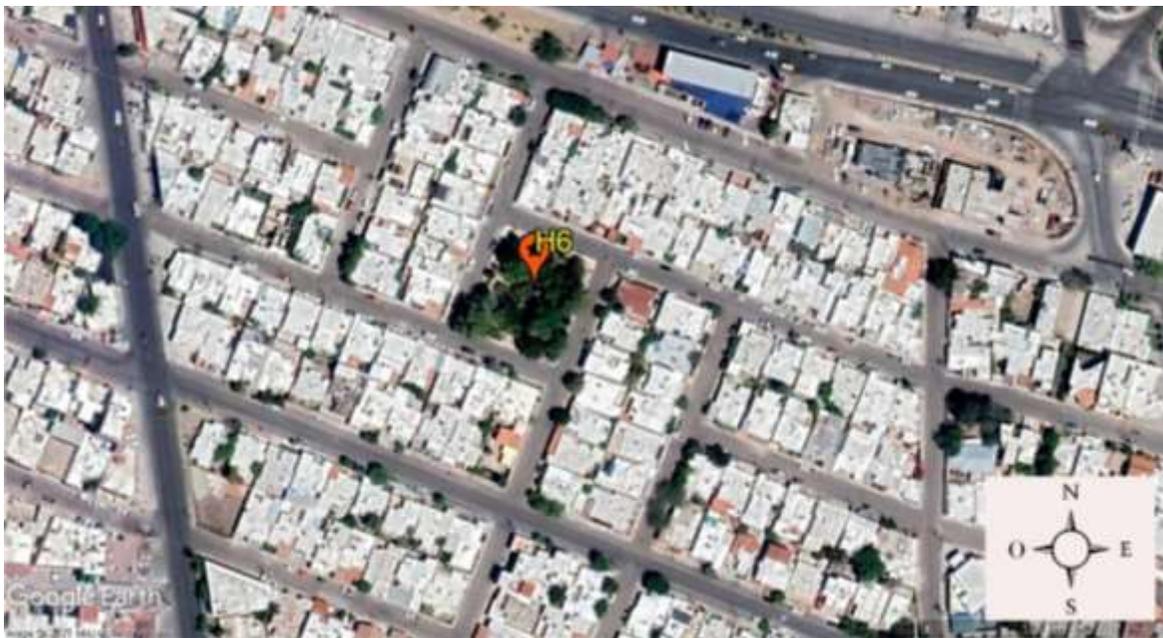


Figura 9. Localización del punto de colecta de Los Arcos en Hermosillo, Sonora, México.

8.7. Géneros Aislados en la localidad de Aeropuerto

Los puntos de colecta en la localidad (H7 y H8) se muestra en la Figura 10. Se aislaron colonias incluidas en seis géneros: *Acremonium* sp., *Aspergillus* spp., *Chaetomium* spp., *Chrysosporium* sp., *Fusarium* spp., *Penicillium* sp. y Micelio Estéril. El punto de colecta que presentó mayor número de colonias de distintos géneros fue H7 con cinco. Los dos puntos de colecta presentaron colonias pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Chaetomium* en común (Cuadro 4).



Figura 10. Localización de los puntos de colecta de Aeropuerto: H7 y H8; en Hermosillo, Sonora, México.

8.8. Identificación Morfológica de los Géneros Aislados en Hermosillo

8.8.1. *Absidia* spp.

Hongos que se caracterizan por tener hifas amplias (6-15 μm de ancho) y no septadas. La morfología de la colonia posee una superficie gris, lanuda y de crecimiento rápido. La reproducción asexual se desarrolla en el esporangióforo (hasta 450 μm de largo), el cual posee un área en el ápice denominada esporangio, en el cual se desarrollan esporangiosporas y una columela que puede tener una proyección en la parte superior. En su base presenta una apófisis cónica. Se considera que el género es inhibido por la cicloheximida (Larone, 2011).



Figura 11. *Absidia* sp. Colonia de apariencia lanuda y color gris claro, creciendo a 28°C en medio APD con tres días de incubación.

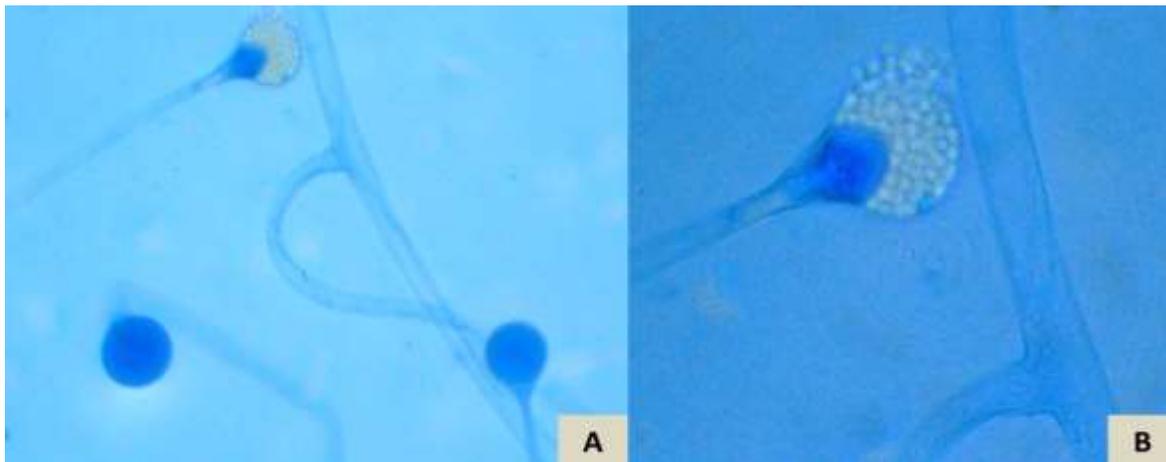


Figura 12. *Absidia* sp. A. Hifas hialinas, cenocíticas y anchas, con esporangios globosos y hialinos 40X. B. Hifa, esporangióforo, esporangio, apófisis, columela cónica y múltiples esporangiosporas 100X.

8.8.2. *Acremonium* spp.

La morfología de la colonia al principio del crecimiento es compacta y glabra, con el tiempo se vuelve polvorienta o algodonosa-vellosa. Puede ser de color blanco, amarillo, gris claro o palo de rosa. El reverso puede ser incoloro, amarillo o rosado. Posee fiálides erectas, estrechas en el ápice y sin ramificar. Los conidios pueden ser de una célula o dos en forma claviforme, cilíndrica o elipsoidal, son hialinos y dispuestos en masa (Larone, 2011).

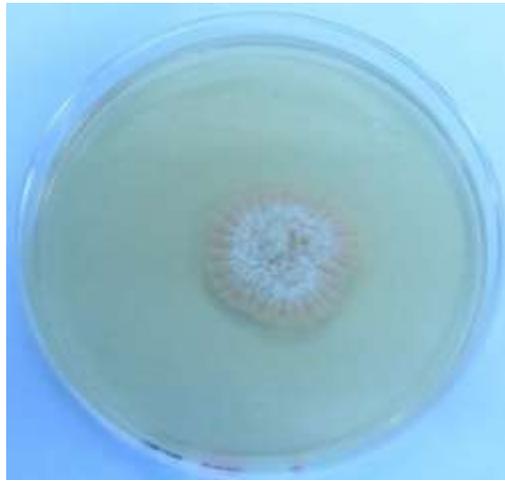


Figura 13. *Acremonium* sp. Colonia de apariencia aterciopelada y glabra con surcos, con el paso del tiempo se vuelve ligeramente vellosa en el centro, creciendo a 28°C en medio APD con seis días de incubación.

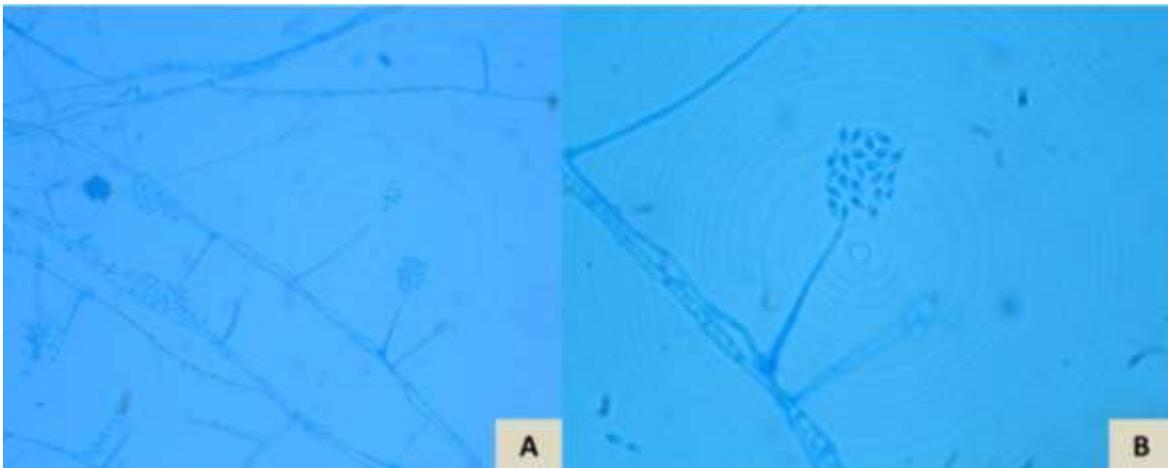


Figura 14. *Acremonium* sp. A. Hifas hialinas. Fiálides largas ensanchadas en la base que se adelgazan en el ápice 40X. B. Hifa septada y fiálide con conidios oblongos, hialinos y unicelulares dispuestos en masas 100X.

8.8.3. *Alternaria* spp.

La superficie de la colonia al inicio del crecimiento es de color blanco con tonos gris y lanosa, con el tiempo se vuelve negra, con tonos verdes o marrón con un borde claro. Eventualmente puede quedar cubierta por hifas aéreas cortas y de tonos grises. El reverso es negro. Se caracteriza por presentar hifas septadas y pigmentadas con conidios tabicados longitudinal y transversalmente, de longitud variable que en ocasiones tienen una apariencia de zigzag. Los poroconidios son acropétalos de color marrón con septos transversales (3-8) y longitudinales (1-2), solitarios o en cadenas (hasta 9) y generalmente son redondos en el extremo más cercano al conidióforo (Larone, 2011; Watanabe, 2010).

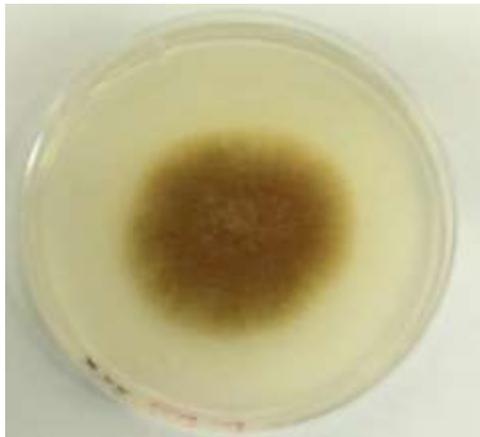


Figura 15. *Alternaria* sp. Colonia de apariencia vellosa de color verde olivo y un borde claro, a 28°C en medio APD con cinco días de incubación.

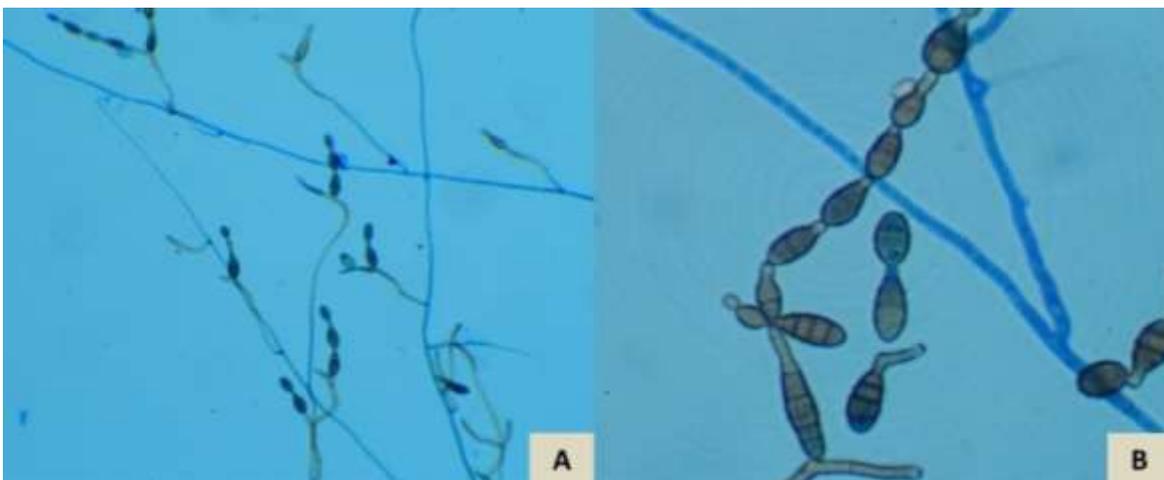


Figura 16. *Alternaria* sp. A. Hifas hialinas con conidioforos marrón, septados y ramificados 40X. B. Cadena de poroconidios ovoides con septos transversales y longitudinales 100X.

8.8.4. *Aspergillus* spp.

Al inicio, la superficie es blanca y luego pasa a múltiples tonos de verde, amarillo, naranja, café o negro, dependiendo de la especie. La apariencia es aterciopelada o algodonosa. El reverso puede ser de color blanco, dorado o marrón. Desarrolla hifas hialinas septadas, conidióforos no ramificados con una vesícula en la parte distal que sustenta a las fiálides y / o métulas según sea el caso. Los conidios pueden ser lisos o rugosos, son redondos, pigmentados y se disponen en cadenas (Larone, 2011).

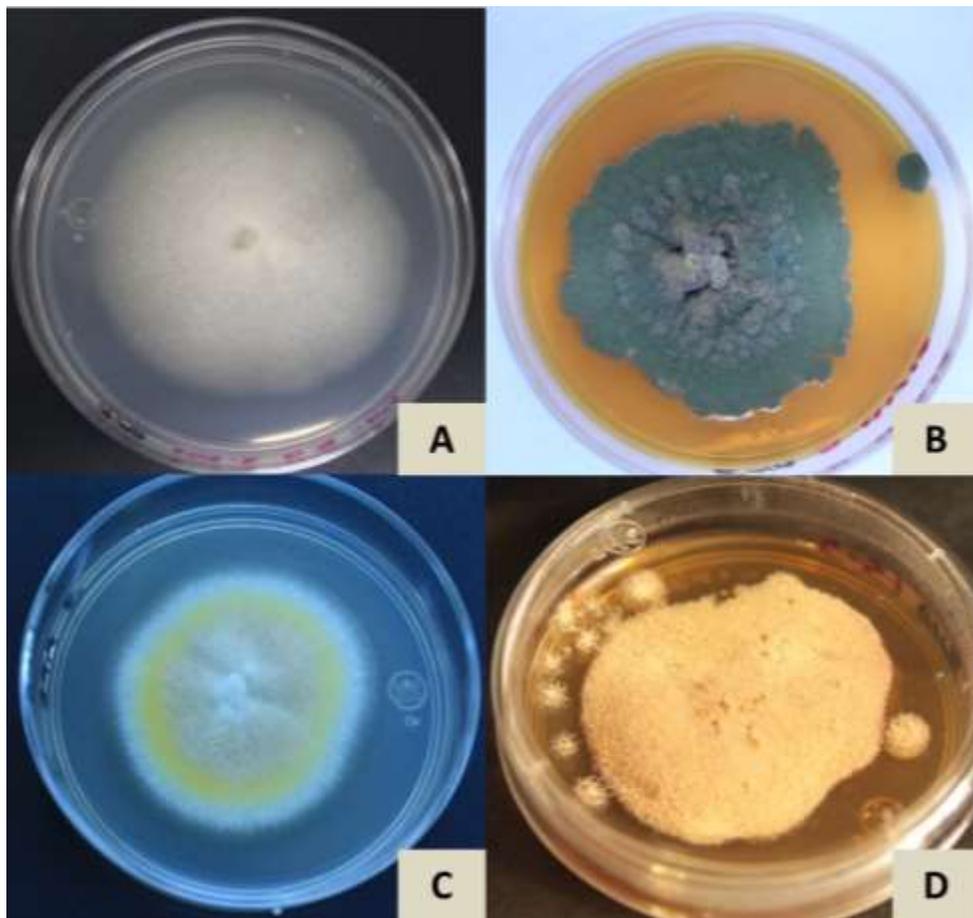


Figura 17. *Aspergillus* spp. Morfología macroscópica creciendo a 28°C. A. Colonia de apariencia aterciopelada de color blanco en medio Czapeck con 5 días de incubación. B. Colonia de apariencia polvosa de color verde con tonalidades grises en medio AEM con 6 días de incubación. C. Colonia de apariencia algodonosa-vellosa de color blanco y centro ligeramente marrón, presenta un aro de color amarillo intenso creciendo en medio APD con 6 días de incubación. D. Colonia de apariencia aterciopelada que con el tiempo desarrolla una apariencia granulosa de color beige en medio AEM con 6 días de incubación.

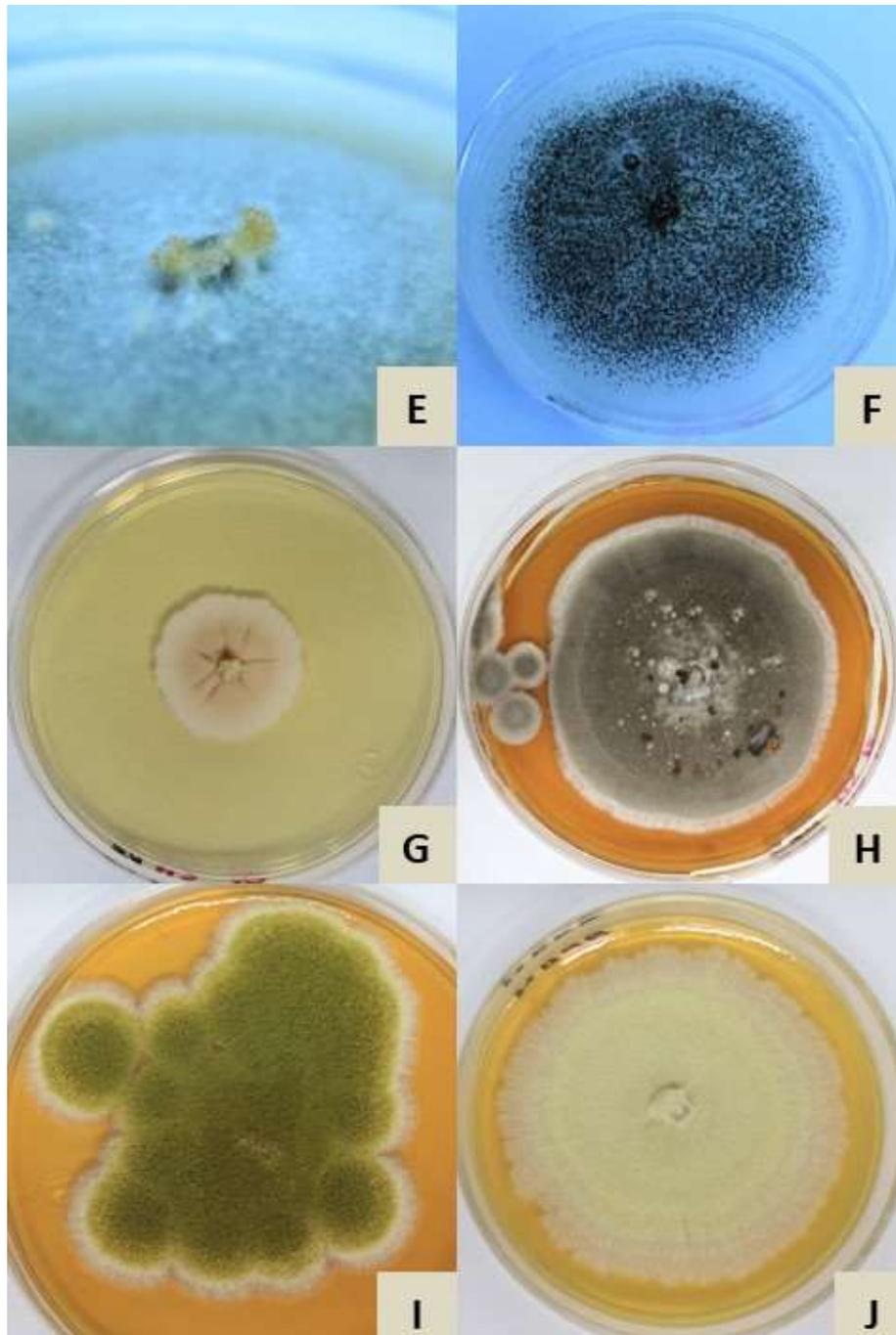


Figura 17. *Aspergillus* spp. Morfología macroscópica creciendo a 28°C. E. Colonia de escaso crecimiento con cabezas aspergílares amarillas en medio APD con 10 días de incubación. F. Colonia de apariencia vellosa de color blanco que con el tiempo desarrolla cabezas aspergílares de color negro creciendo en medio Czapeck con 6 días de incubación. G. Colonia de apariencia polvosa de color beige con el centro más intenso en medio APD con 5 días de incubación. H. Colonia de aspecto aterciopelado de color gris con la periferia de color blanco y exudado marrón oscuro en medio AEM con 9 días de incubación. I. Colonia de apariencia polvosa de color verde olivo y periferia de color beige creciendo en medio AEM con 7 días de incubación. J. Colonia de apariencia polvorienta de color amarillo que disminuye su intensidad en la periférica creciendo en medio APD con 9 días de incubación.

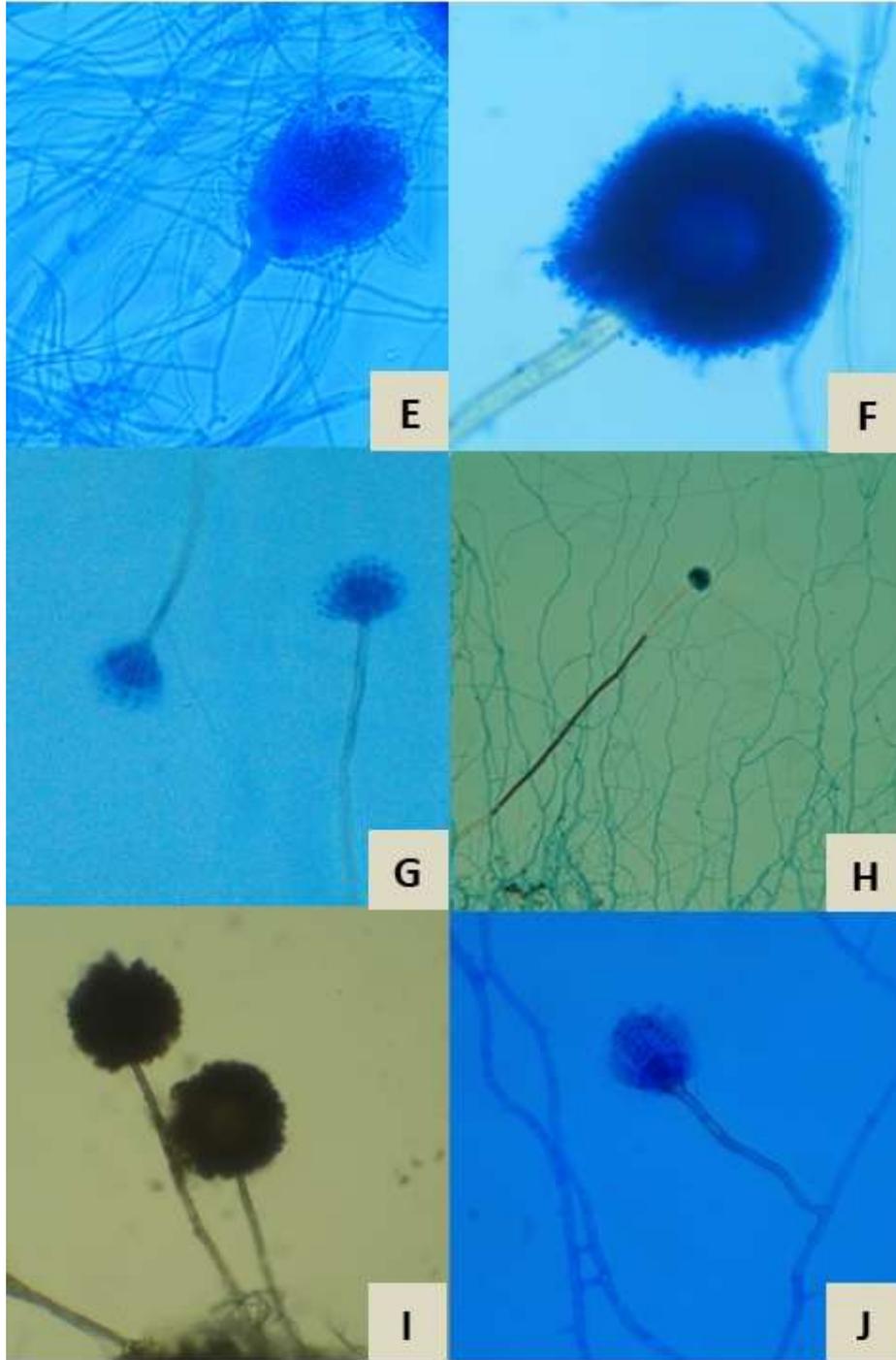


Figura 18. *Aspergillus* spp. A. Hifas hialinas y conidióforo hialino, ensanchado en la parte distal (vesícula) con cabeza conidial en forma columnar (conidios en cadenas) 40X. B. Conidióforo hialino con cabeza conidial en forma radial y abundantes conidios 40X. C. Conidióforos hialinos con cabeza conidial de forma radiada y fiálides, con algunos conidios 40X. D. Hifas hialinas, conidióforo largo con cabeza conidial en forma radiada y conidios dispuestos en cadenas 10X. E. Conidióforos pigmentados con cabeza conidial en forma radiada y abundantes conidios 40X. F. Hifas hialinas, conidióforo corto y pigmentado con cabeza conidial en forma columnar y conidios dispuestos en cadenas 40X.

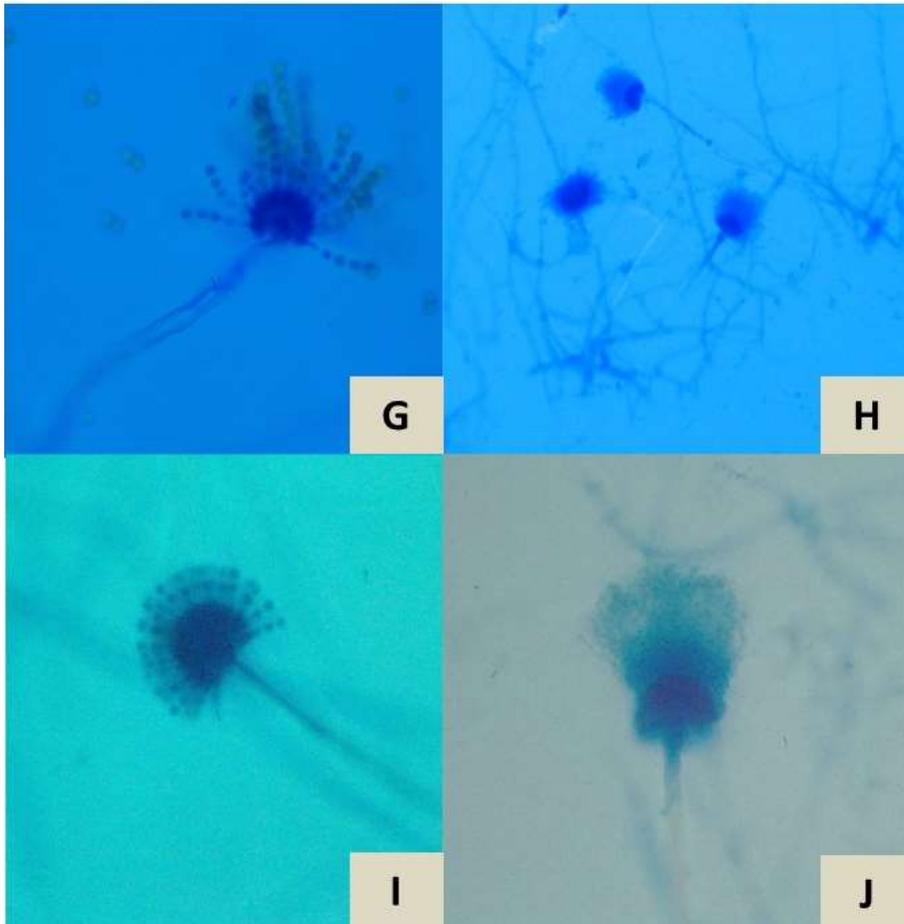


Figura 18. *Aspergillus* spp. G. Conidióforo hialino con cabeza conidial en forma radiada y cadenas de conidios hialinos y pigmentados 40X. H. Hifas hialinas y conidióforos hialinos con cabezas conidiales de forma columnar y cadenas de conidios hialinos 10X. I. Conidióforo hialino con cabeza conidial en forma radiada cubierta por métulas y fiálides, y cadenas de conidios 40X. J. Conidióforo con cabeza conidial en forma columnar y conidios hialinos y pigmentados 40X.

8.8.5. *Chaetomium* spp.

Género con colonias de crecimiento rápido, llegan madurar a los 5 días. Presenta una apariencia algodonosa, de color blanco que con el tiempo se vuelve gris, verde oliva o café. El reverso suele ser naranja, rojo, marrón o negro. Sus hifas son septadas y presenta peritecios redondos, ovalados o en forma de matraz que son de color oliva a marrón, frágiles y tienen apéndices filamentosos, libres en el ápice ya sea ondulados y / o rectos. Las ascas son cilíndricas, ovoides o en forma de mazo, contienen de cuatro a ocho ascosporas con forma ovalada, unicelulares y generalmente de color marrón oliva, aunque pueden presentarse de otros colores y formas (Larone, 2011).

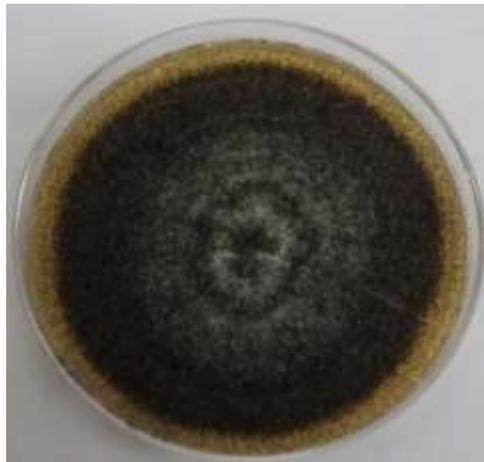


Figura 19. *Chaetomium* sp. Colonia de apariencia algodonosa de color blanco que con el paso del tiempo desarrolla pequeños puntos de color negro, creciendo a 28°C en medio AEM con cinco días de incubación.

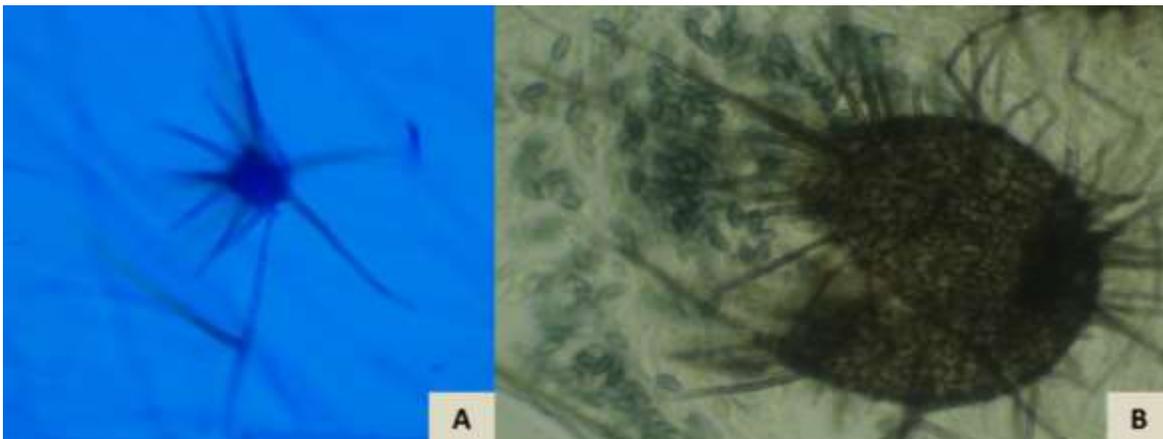


Figura 20. *Chaetomium* sp. A. Formación de peritecio 40X. B. Peritecio de forma elipsoidal de color negro con apéndices filamentosos rectos en su superficie de color oscuro. Ascosporas ovoides de color marrón, unicelulares y apiculadas en ambos extremos 40X.

8.8.6. *Chrysosporium* spp.

Colonias de crecimiento moderadamente rápido que maduran a los 6 días. Puede presentar una superficie plana o ligeramente elevada con apariencia polvorienta o algodonosa de color blanco, amarillo, rosado o naranja. El género puede crecer en presencia de cicloheximida. La morfología microscópica está representada por hifas hialinas y septadas con conidios emergiendo directamente de las hifas de forma intercalada y pueden ser simples o ramificados. Los conidios son usualmente de una célula, claviformes, de paredes delgadas o gruesas en ocasiones con un remanente de pared celular que permanece en la base después de desprenderse al madurar. *Chrysosporium* spp. es el anamorfo de *Nannizziaopsis vriesii* por lo que, ocasionalmente, se pueden ver grandes cuerpos fructíferos (cleistotecios) en cultivo (Larone, 2011).



Figura 21. *Chrysosporium* sp. Colonia de apariencia aterciopelada color blanco con exudado color violeta, creciendo a 28°C en medio Mycosel® con cinco días de incubación.

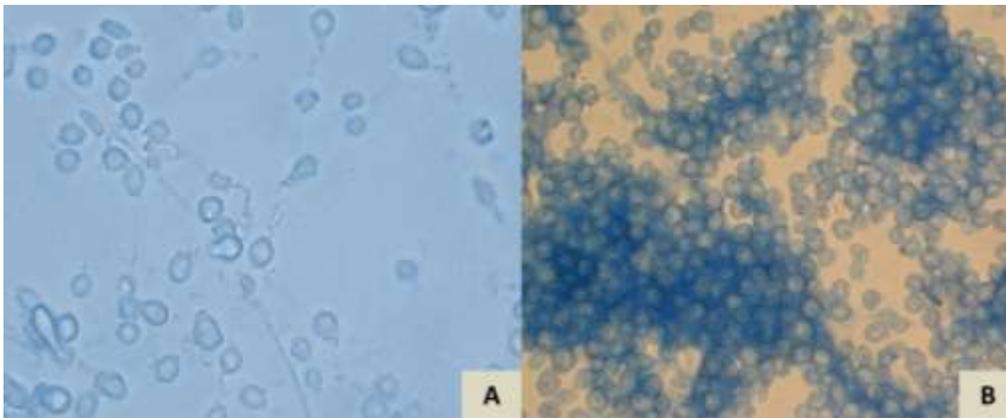


Figura 22. *Chrysosporium* sp. A. Hifas septadas, hialinas, con conidios unicelulares y hialinos 100X. B. Conidios unicelulares, hialinos y de paredes lisas 100X.

8.8.7. *Cladosporium* spp.

De crecimiento moderadamente rápido, las colonias maduran a los 7 días y presentan un color verde, marrón o negro y una apariencia aterciopelada. Las hifas son septadas y pigmentadas. Los conidióforos son pigmentados y ramificados en el ápice (2-3 veces) varían en longitud y generalmente producen dos o más cadenas de conidios, se caracterizan por tener forma de árbol. Los conidios pueden ser hialinos o marrones, ovados, elipsoidales, cilíndricos, subglobosos, apiculados en un extremo y truncados en el otro, generalmente lisos, mostrando manchas oscuras en el punto donde se unieron a otro conidio o al conidióforo. Las células que los sustentan son grandes y se le denomina “células escudo” (Larone, 2011; Watanabe, 2010).



Figura 23. *Cladosporium* sp. Colonia de apariencia aterciopelada de color verde olivo y de bordes regulares, creciendo a 28°C en medio APD con siete días de incubación.

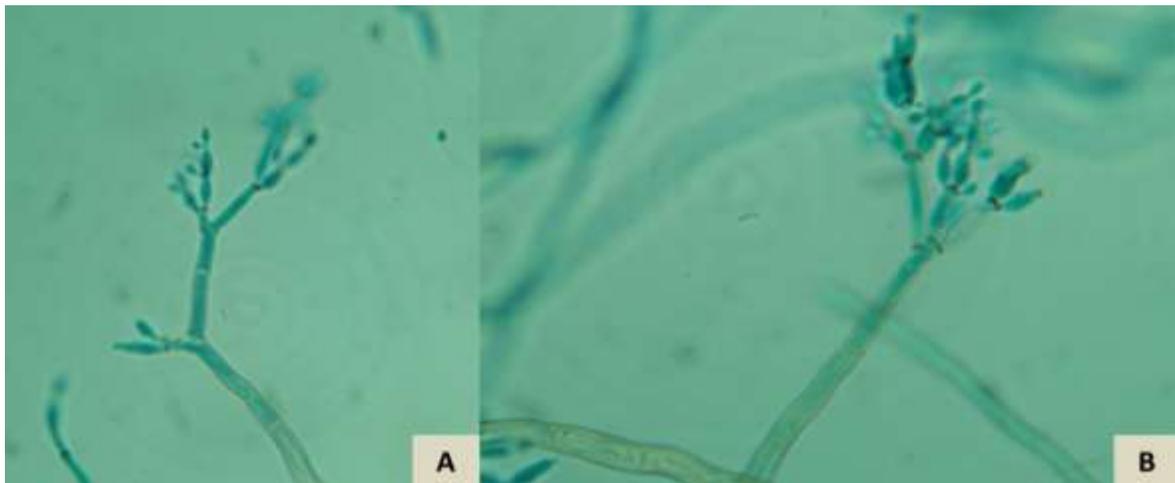


Figura 24. *Cladosporium* sp. A. Conidióforo ramificado 40X. B. Hifa pigmentada, conidióforo ramificado con conidios catenulados, elipsoidales, hialinos y unicelulares 100X.

8.8.8. *Cunninghamella* spp.

El género se caracteriza por presentar una apariencia lanosa. Es de color blanco o gris con rápido crecimiento y puede madurar en promedio a los cuatro días de desarrollo. Sus hifas son hialinas y cenocíticas. Sus esporangioforos pueden ser simples o ramificados con dominancia apical, terminan en una vesícula hinchada que está cubierta por dentículos en forma de espinas, las cuales, sostienen un esporangio redondo u ovalado que posee en su interior una espora. Pueden verse rizoides, también pueden formar zigosporas y clamidosporas (Larone, 2011; Nguyen *et al.*, 2017).



Figura 25. *Cunninghamella* sp. Colonia de apariencia algodonosa de color blanco que al madurar toma tonos de gris, creciendo a 28°C en medio APD con tres días de incubación.

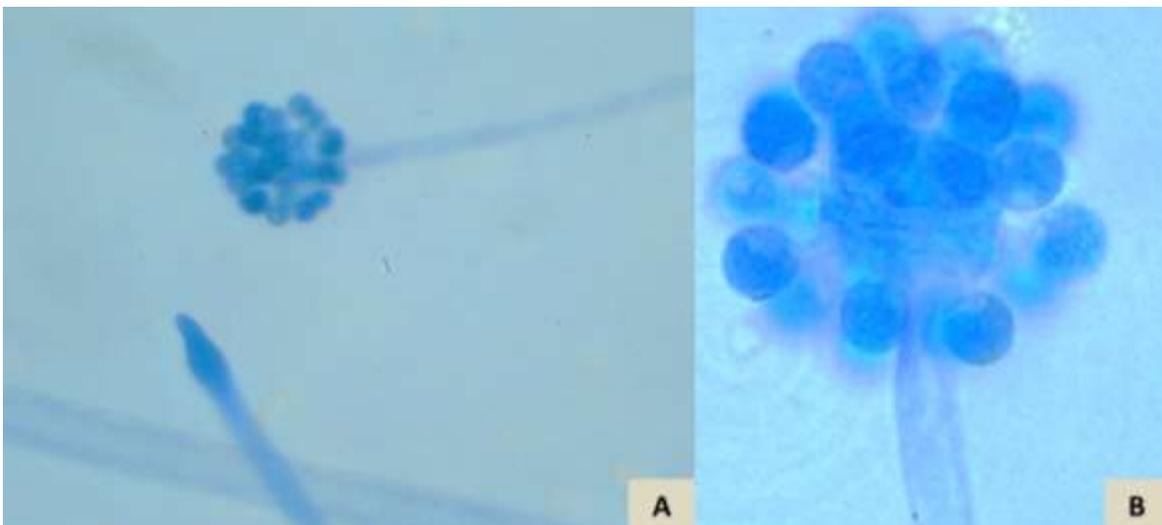


Figura 26. *Cunninghamella* sp. A. Hifa hialina y cenocítica, esporangioforo simple 40X. B. Esporangioforo con vesícula hialina terminal rodeada de dentículos sosteniendo esporangios de forma radiada 100X.

8.8.9. *Emericella* spp.

El género incluye organismos del suelo con amplia distribución y de rápido crecimiento. Las colonias presentan apariencia algodonosa con tonalidades verde, beige, amarillo y marrón. El reverso puede ser naranja, rojo intenso o violeta. La morfología microscópica muestra hifas septadas, conidióforos biseriados lisos, cortos y marrones, que se oscurecen con la edad. Los conidios son redondos y lisos. Se caracteriza por cleistotecios de color oscuro con el peridio compuesto por varias capas de hifas gruesas y compactas, además de células de Hülle, globosas, elípticas, vesiculares o en forma de herradura. Las ascas contienen ocho ascosporas de color rojo a violeta (Larone, 2011; Herrera y Ulloa 1998).

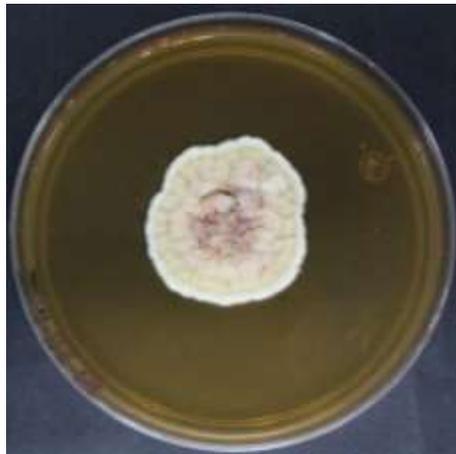


Figura 27. *Emericella* sp. Colonia de apariencia algodonosa de color amarillo y exudado de color anaranjado que se difunde en el medio de cultivo, creciendo a 28°C en medio AEM con siete días de incubación.

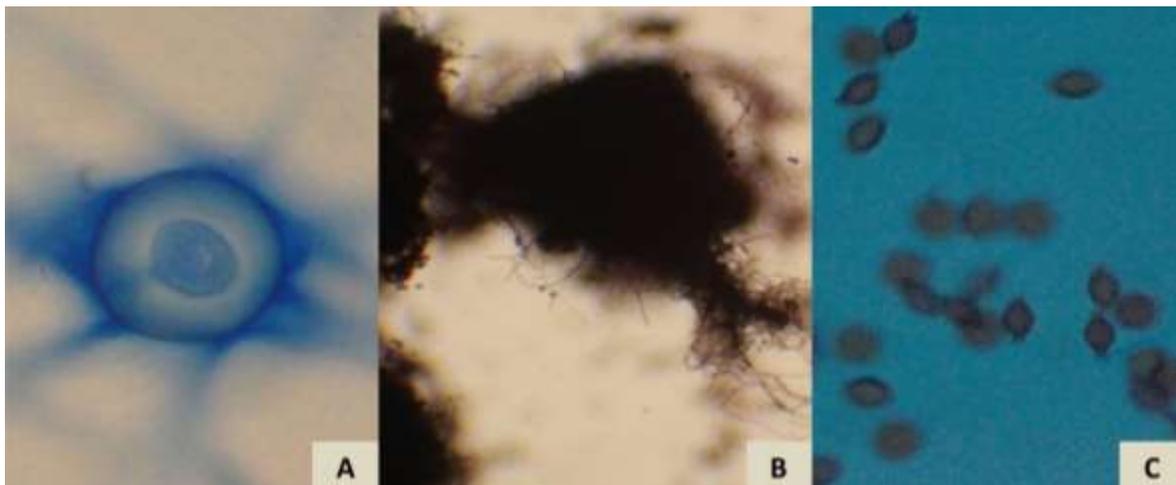


Figura 28. *Emericella* sp. A. Célula de Hülle 40X. B. Cleistotecio 10X. C. Ascosporas rojas 100X.

8.8.10. *Eurotium* spp.

El género se caracteriza por una apariencia vellosa con áreas amarillas en donde se desarrollan los cleistotecios con ascosporas lenticulares o elipsoidales. En ciertas áreas de la colonia se pueden presentar cabezas de conidios uniseriadas en tonos de verde a azul y a menudo, amarillas (Larone, 2011; Hubka *et al.*, 2013).

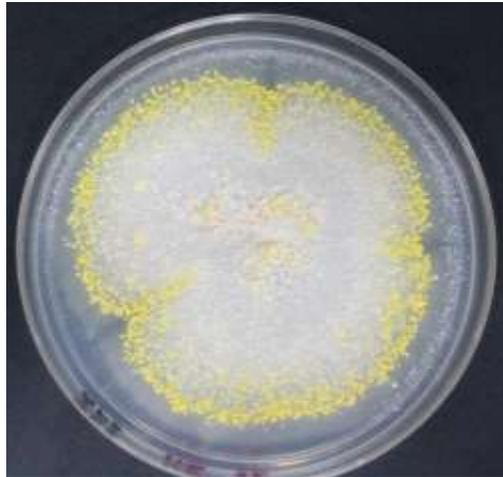


Figura 29. *Eurotium* sp. Colonia de aspecto vellosa de color blanco y bordes cubiertos de pequeños puntos amarillos, creciendo a 28°C en medio APD con diez días de incubación.

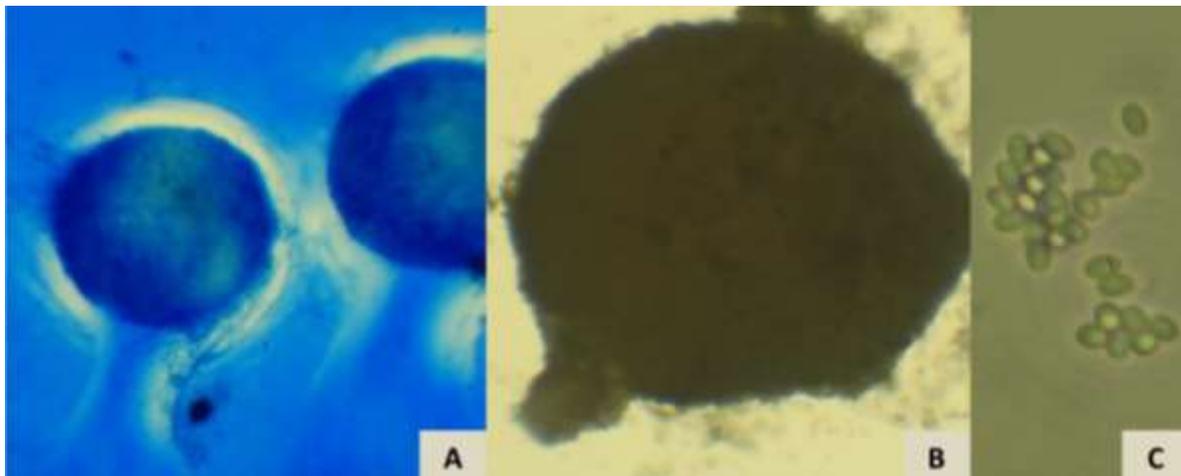


Figura 30. *Eurotium* sp. A. Cleistotecios en formación 40X. B. Cleistotecio 10X. C. Ascosporas hialinas de forma elipsoidal 100X.

8.8.11. *Fusarium* spp.

El género es caracterizado por colonias de color blanco y textura algodonosa, que desarrolla rápidamente un centro rosado o violeta con una periferia más clara. Algunas especies se vuelven anaranjadas. Presentan hifas hialinas, septadas y dos tipos de conidiación. Puede presentar fiálides o conidióforos simples o ramificados. Desarrollan macroconidios (2-6 x 14-60 μm) con células apicales ligeramente curvadas generando una forma de luna (de tres a cinco septos, generalmente) y microconidios (2-4 x 4-8 μm), ovalados o cilíndricos de una o dos células (Larone, 2011; Watanabe, 2010).

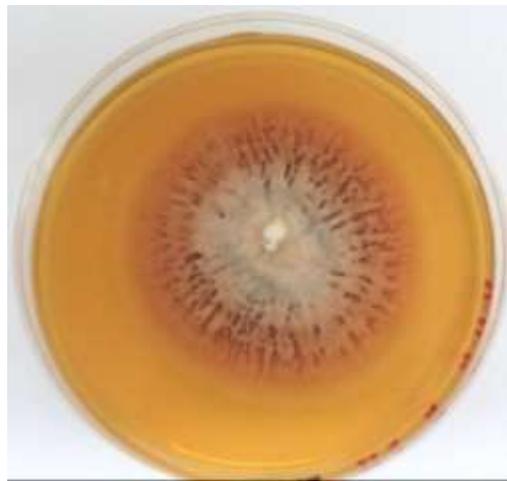


Figura 31. *Fusarium* sp. Colonia de apariencia aterciopelada de color naranja. El anverso de la colonia presenta una pigmentación rosada en el centro que disminuye en la periferia, creciendo a 28°C en medio AEM con siete días de incubación.

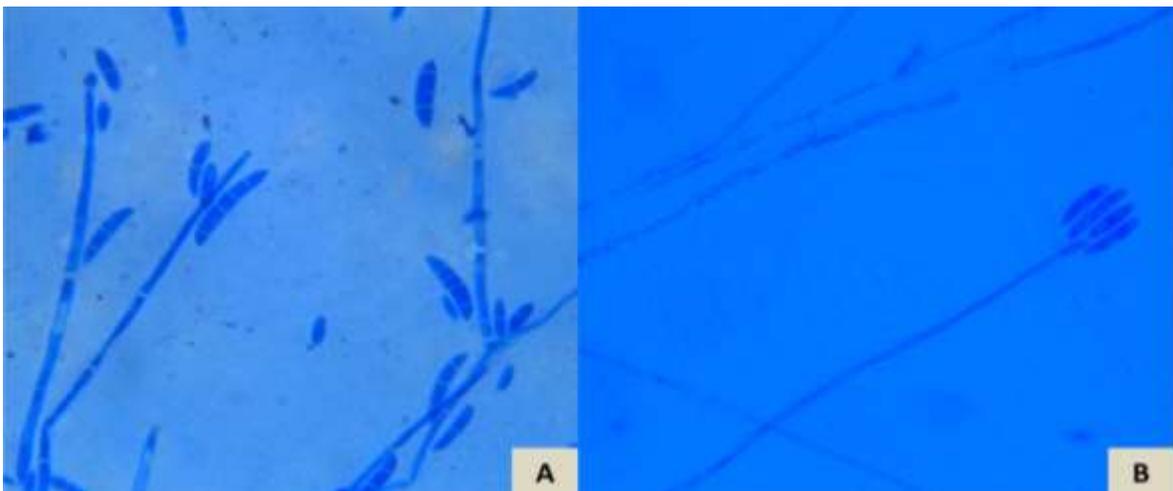


Figura 32. *Fusarium* sp. A. Hifas hialinas y septadas, largas fiálides con macroconidios fusiformes hialinos y microconidios bicelulares ovalados también hialinos 40X. B. Fiálide con macroconidios fusiformes multicelulares 40X.

8.8.12. *Malbranchea* spp.

Las colonias presentan una textura polvorienta o ligeramente algodonosa de color blanco, amarillo, beige, naranja o rosa. Sus hifas son hialinas y septadas, en ellas se desarrollan artroconidios rectos o curvos que alternan con células vacías. Los artroconidios se liberan por el rompimiento de las células vacías y una porción a menudo permanece adherida a ellos (Larone, 2011).



Figura 33. *Malbranchea* sp. Colonia de apariencia polvorienta y pigmentación ligeramente beige en el centro y de color blanco en la periferia, creciendo a 28°C en Agar Mycosel® con quince días de incubación.

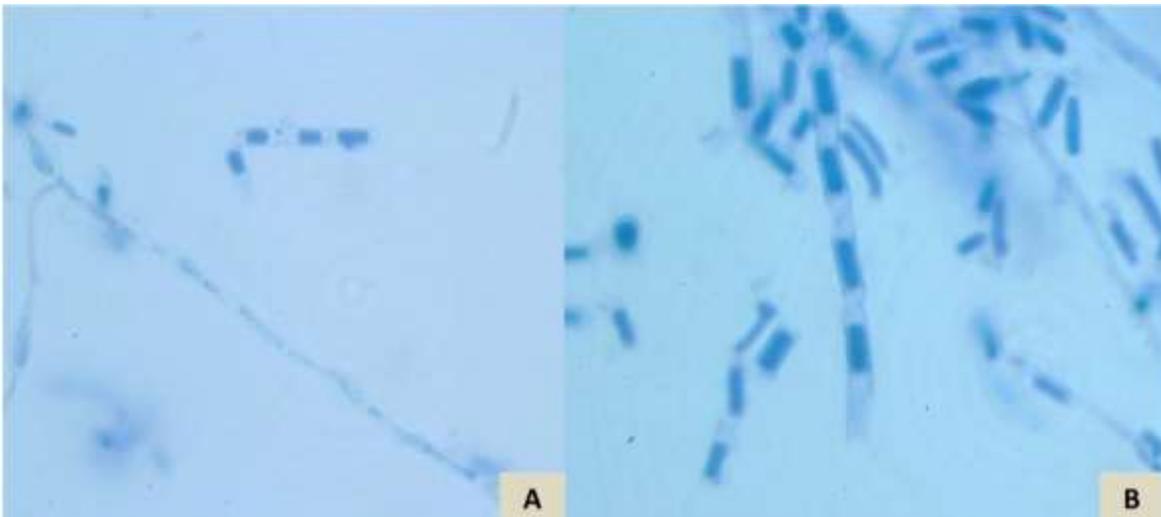


Figura 34. *Malbranchea* sp. A. Hifas hialinas y septadas con artroconidios 40X. B. Artroconidios hialinos con células disyuntoras 100X.

8.8.13. *Paecilomyces* spp.

El género se caracteriza por una superficie plana y de apariencia polvorienta o aterciopelada; las colonias pueden ser de color amarillo, rosado, blanco o amarillo verdoso, pero nunca verde brillante o azul verdoso; a menudo tiene un borde blanquecino. El reverso es blanco, rosado, amarillo o marrón pálido. Las fiálides son alargadas y se estrechan hasta formar un tubo largo y delgado, lo que les da forma de espinas. Los conidios son elípticos u oblongos y se curvan en cadenas largas no ramificadas (Larone, 2011).



Figura 35. *Paecilomyces* sp. Colonia con aspecto aterciopelado de color amarillo y anaranjado en el centro con surcos y exudado de color anaranjado que se difunde en el medio de cultivo, creciendo a 28°C en medio Agar Mycosel® con ocho días de incubación.

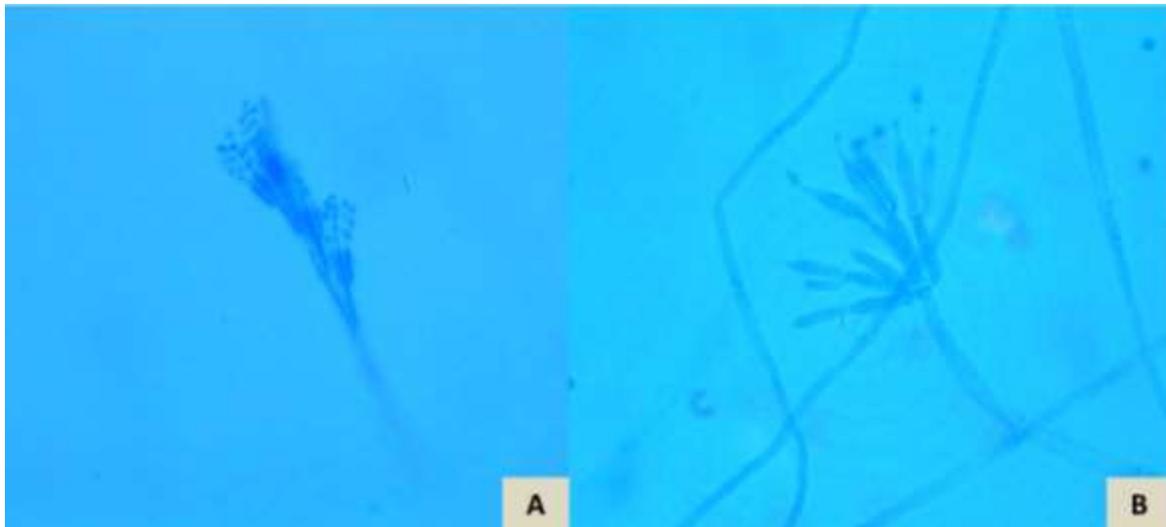


Figura 36. *Paecilomyces* sp. A. Conidióforo ramificado 40X. B. Conidióforo con fiálides alargadas estrechas en el ápice con conidios en forma elíptica 100X.

8.8.14. *Penicillium* spp.

El género se caracteriza por presentar una apariencia polvorienta, las colonias son de color blanco al inicio de su desarrollo y adquieren con el tiempo una tonalidad verde con tonos azules y un borde blanco. Algunas especies menos comunes difieren en color y textura. El reverso suele ser blanco, pero puede ser marrón o rojizo. Presenta hifas hialinas y septadas con conidióforos ramificados o no, que tienen ramas secundarias conocidas como métulas. En las métulas, dispuestas en verticilos, hay fiálides en forma de matraz que llevan cadenas de conidios lisos o rugosos, casi redondos. Toda la estructura forma el característico aspecto de "pincel" (Larone, 2011).

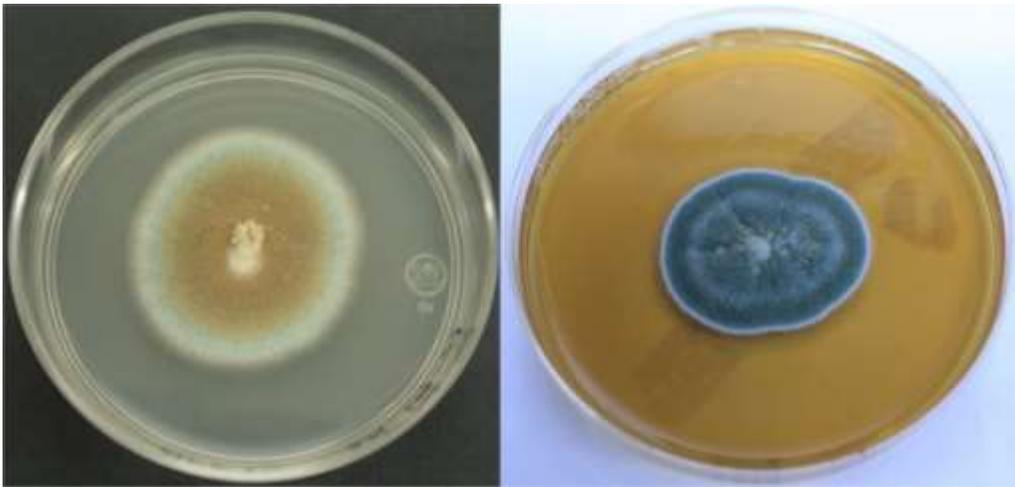


Figura 37. *Penicillium* spp. Colonias con aspecto polvorienta con tonalidades verdes y un borde claro con exudado color marrón, creciendo a 28°C en medio AEM con cinco días de incubación.

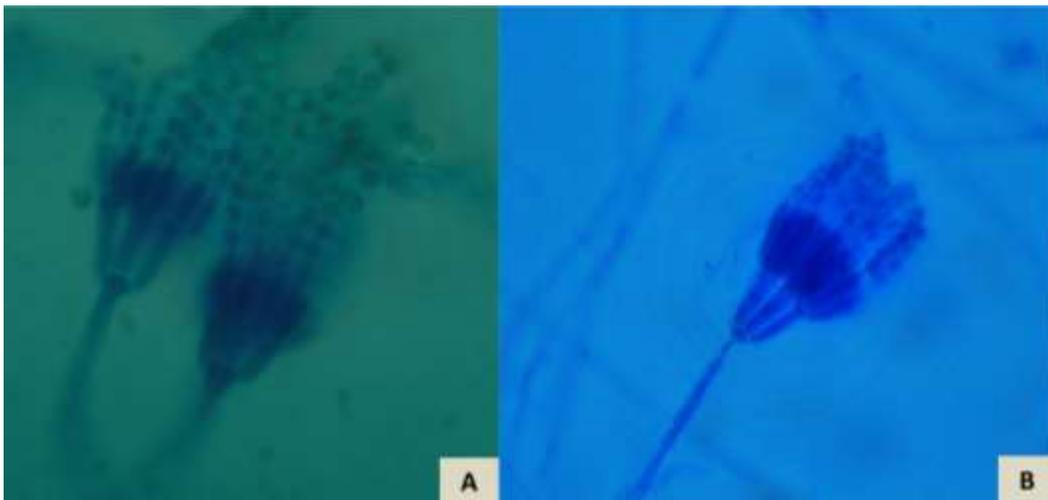


Figura 38. *Penicillium* spp. A. Conidióforos con abundantes conidios globosos pigmentados 100X. B. Conidióforo monovérticilado 100X.

8.8.15. *Trichoderma* spp.

El género se caracteriza por presentar una apariencia de pelusa blanca que cubre el agar en unos pocos días. Eventualmente se producen manchas verdes debido a la formación de conidios (típicamente en el margen de la colonia). El reverso es incoloro, amarillo o anaranjado claro. Las hifas son hialinas y septadas. Los conidióforos son cortos y con frecuencia ramificados en ángulos amplios; las fiálides tienen forma de matraz y se forman en ángulos amplios con respecto al conidióforo. Los conidios son redondos o ligeramente ovalados y se agrupan al final de cada fiálide en racimos (Larone, 2011).

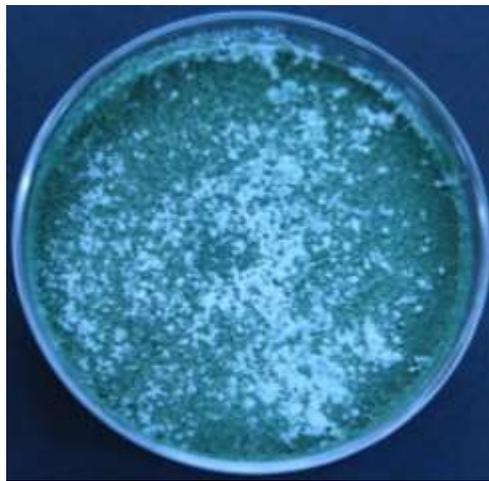


Figura 39. *Trichoderma* sp. Colonia de apariencia polvorienta, de color verde y secciones blancas, creciendo a 28°C en medio APD con cinco días de incubación.

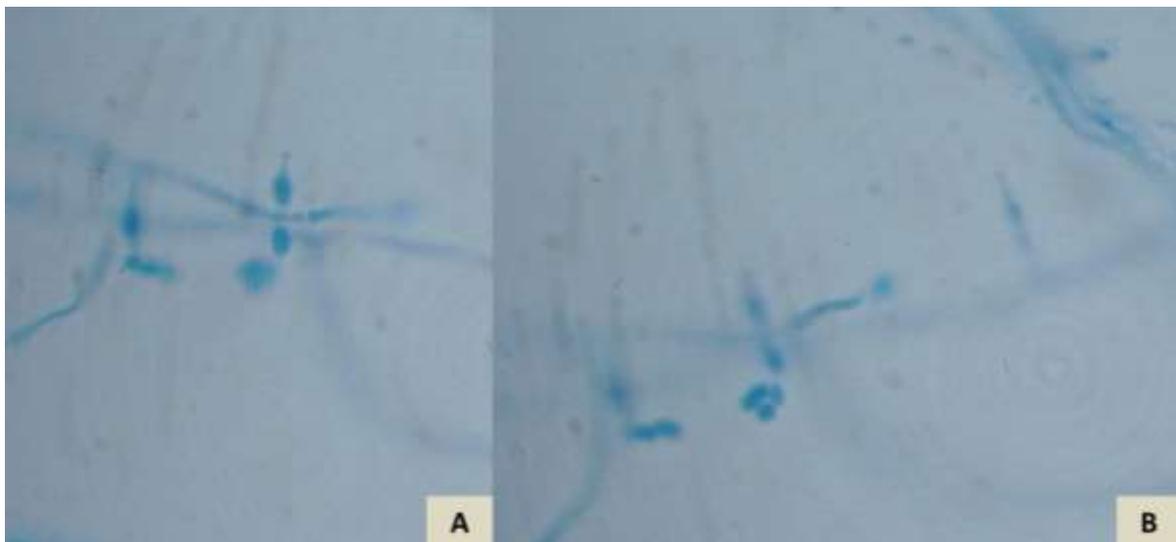


Figura 40. *Trichoderma* sp. A. Conidióforo ramificado en ángulos amplios con fiálides en forma de matraz 100X. B. Conidios redondos, hialinos, unicelulares y agrupados 100X.

8.8.16. Probables *Coccidioides* spp.

Se consideraron ocho colonias sospechosas para *Coccidioides* spp., de las cuales cinco fueron micelio estéril, dos se descartaron por generar conidios no característicos del género y una más, que formó artroconidios (denominada AD). Esta última se sometió a una prueba de identidad por medio de biología molecular (PCR anidada de Bialek), el resultado fue negativo (Figura 41), razón por la cual, la colonia se consideró como *Malbranchea* sp.

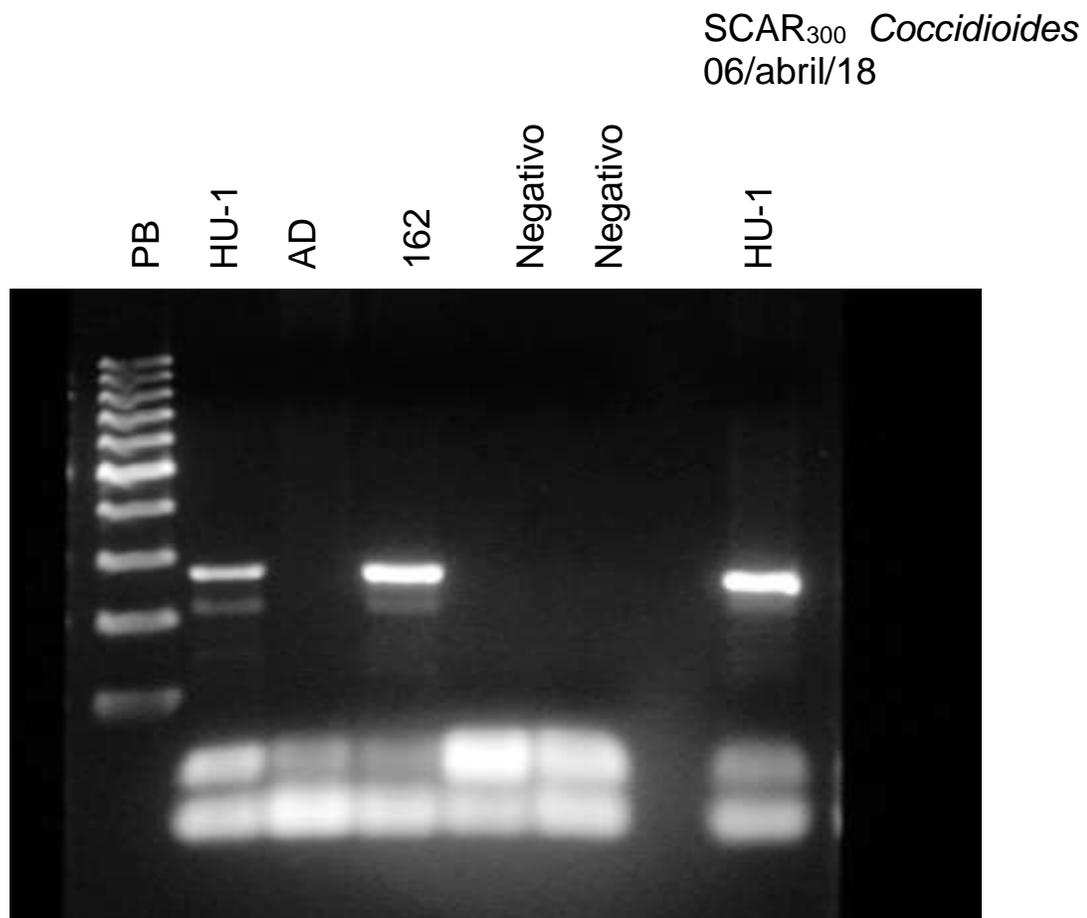


Figura 41. Prueba de especificidad de PCR anidada de Bialek. HU-1: marcador de referencia; AD: hongo sospechoso para el género *Coccidioides* (*Malbranchea* sp.); 162: *Coccidioides* sp. aislada de un paciente; PB: marcador de peso molecular.

8.8.17. Micelio estéril

Micelia sterilia es como se les denomina a todas aquellas colonias o cepas que no producen estructuras de reproducción, formando únicamente hifas ya sean hialinas o pigmentadas. En este trabajo se aislaron de todos los puntos de colecta, en las figuras 42 y 43 se muestran algunos ejemplos de ellas.

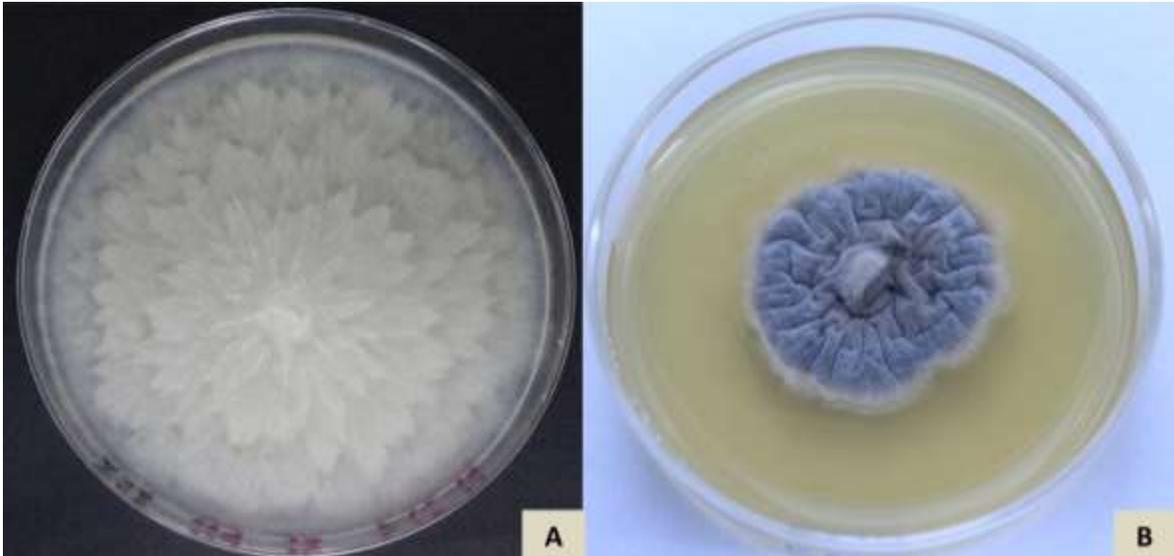


Figura 42. *Micelia sterilia*. A. Colonia de apariencia vellosa de color blanco, con bordes irregulares. B. Colonia de apariencia aterciopelada de color gris con surcos y bordes irregulares.

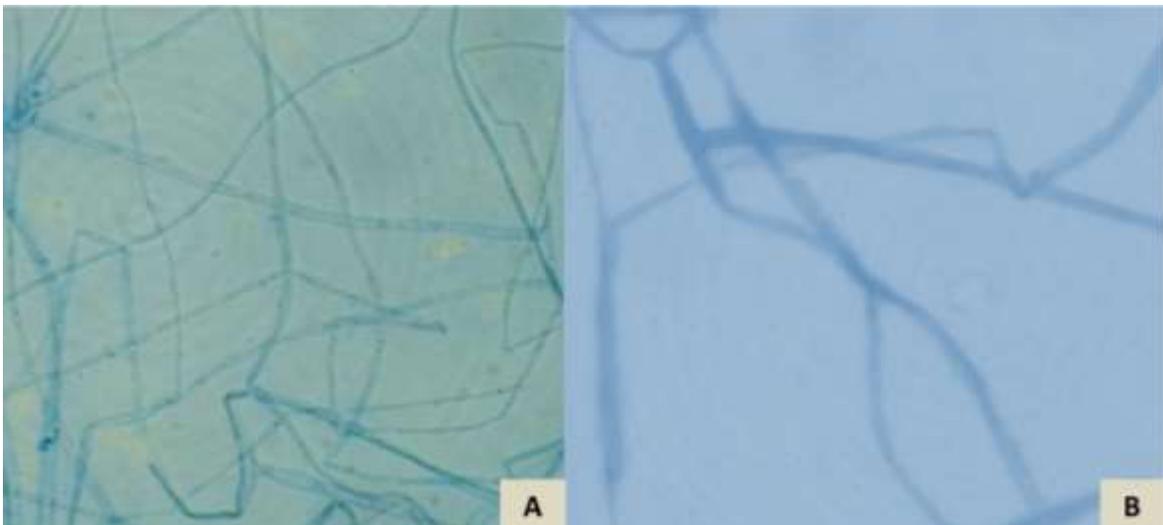


Figura 43. *Micelia sterilia*. A. Hifas hialinas septadas y sin estructuras de reproducción. B. Hifas hialinas, septadas y sin estructuras de reproducción.

8.8.18. Colonias sin identificar.

Algunas de las colonias que presentaban estructuras como peritecios, ascas, sinemas o esporas sin identificación de estructura productora e incluso desarrollaban el estado dimórfico, se mantuvieron como colonias sin identificar. En las figuras 44-49 se muestran las morfologías de dichas colonias (macro y microscópicamente).

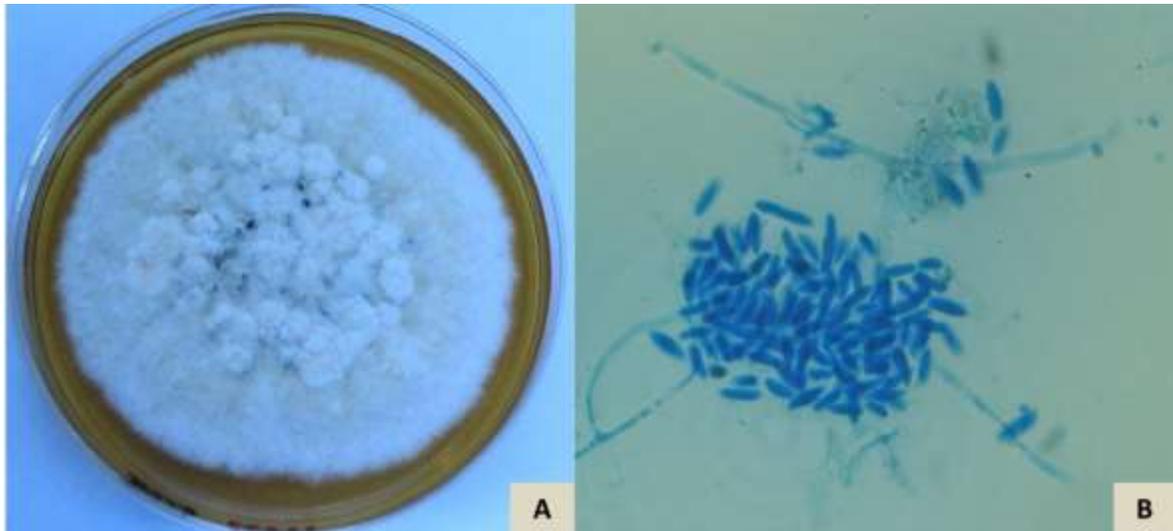


Figura 44. Aislado sin identificar recuperado de la localidad de Sahuaro, Sitio H2. A. Colonia de apariencia algodonosa de color blanco que desarrolla protuberancias de color oscuro con el paso del tiempo. B. Esporas hialinas 100X. H2

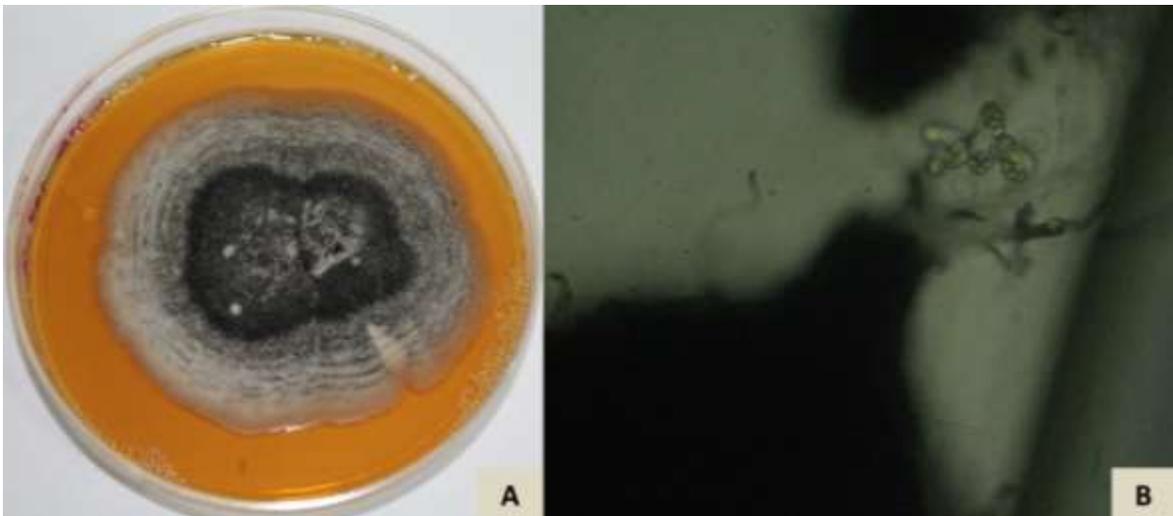


Figura 45. Aislado sin identificar recuperado de la localidad de Sahuaro, Sitio H2. A. Colonia de apariencia aterciopelada de color blanco que con el tiempo se torna oscura. B. Peritecio con ostiolo expulsando ascas con ascosporas. H2

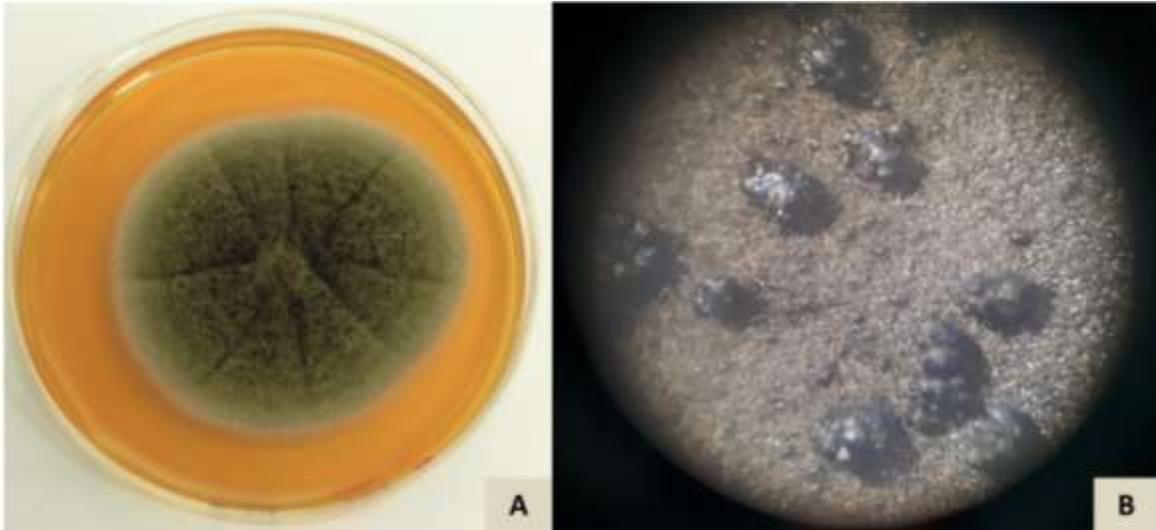


Figura 46. Aislado sin identificar recuperado de la localidad de Sahuaro, Sitio H4. A. Colonia de apariencia aterciopelada de color verde olivo y contorno ligeramente más claro que el resto. B. Estructuras de consistencia maciza, de color oscuro creciendo en la superficie de la colonia.

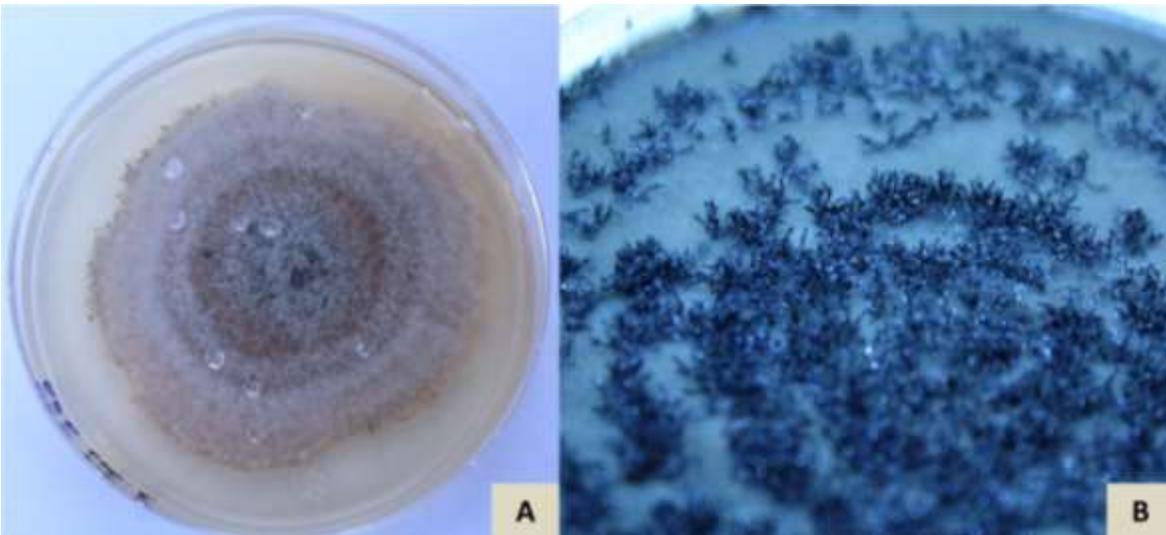


Figura 47. Aislado sin identificar recuperado de la localidad de Los Arcos, Sitio H6. A. Colonia de apariencia algodonosa-vellosa de color blanco con crecimientos circulares de color marrón. B. Estructuras con apariencia de sinemas, de color oscuro y que se desarrollan en la superficie de la colonia.

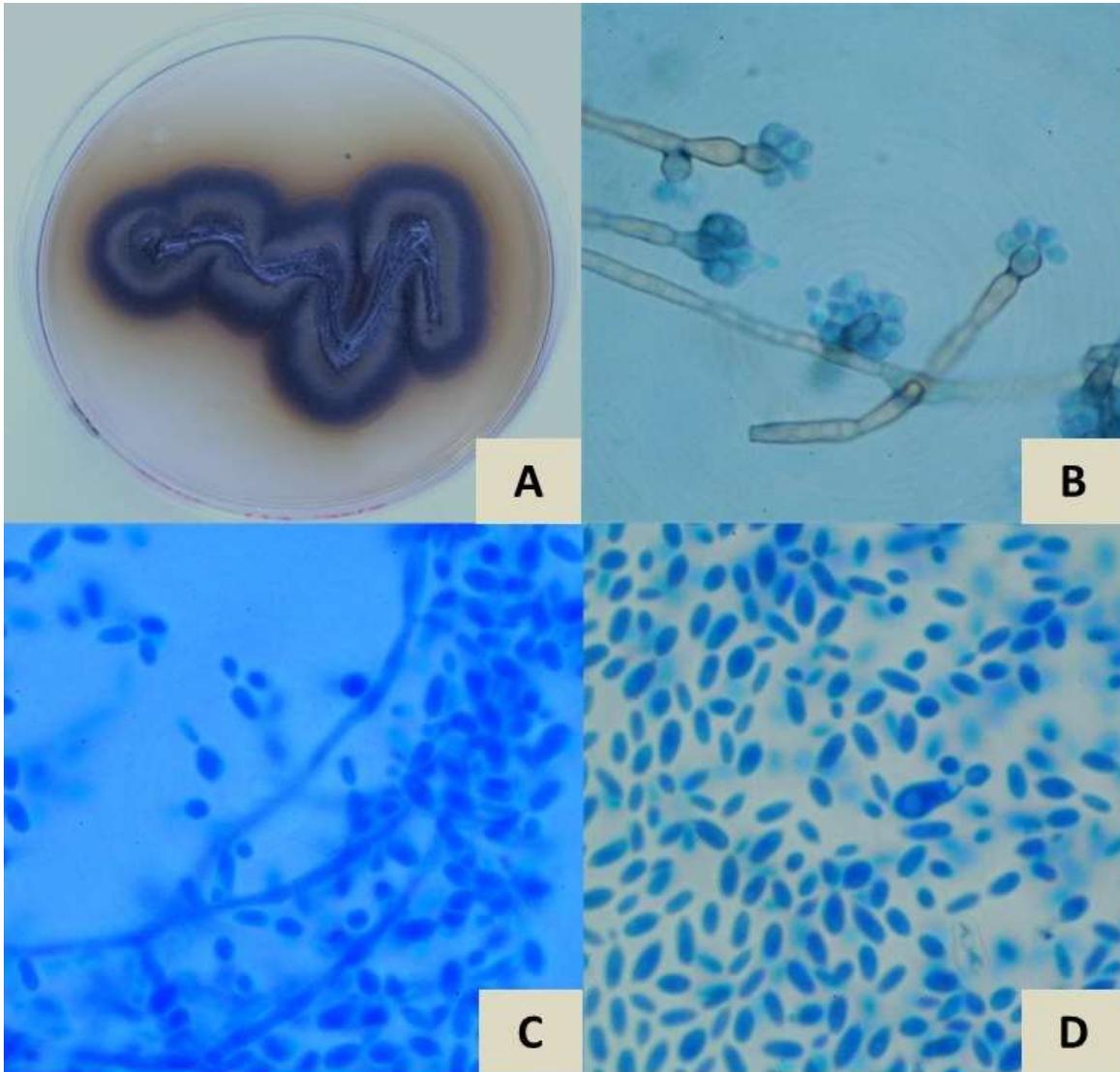


Figura 48. Aislado sin identificar recuperado de la localidad de Aeropuerto, Sitio H7. Aislado sin identificar. A. Colonia de apariencia aterciopelada-cremosa de color marrón que difunde un pigmento color marrón al medio de cultivo. B. Conidióforos ramificados y pigmentados con conidios hialinos y oblongos. C. Hifas hialinas y levaduras. D. Levaduras en gemación.

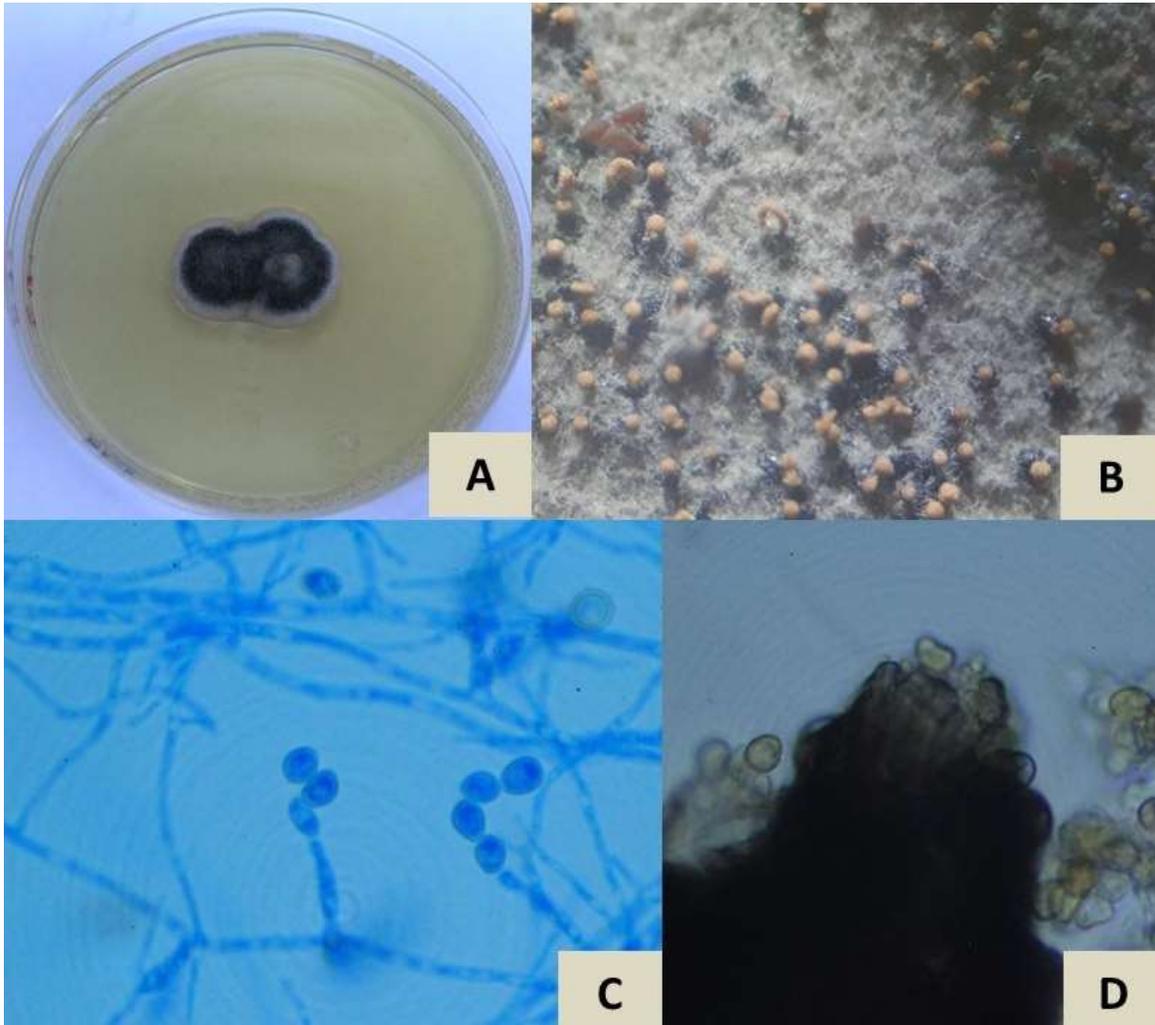


Figura 49. Aislado sin identificar recuperado de la localidad de Aeropuerto, Sitio H8. Aislado sin identificar. A. Colonia de aspecto aterciopelado de color gris oscuro en el centro y periferia ligeramente más clara. B. Peritecios con expulsión de ascosporas. C. Hifas hialinas septadas, con fíalides y conidios. D. Ostiolo de peritecio con ascosporas pigmentadas.

9. DISCUSIÓN

Se lograron identificar 15 géneros y micelio estéril que constituyen la comunidad fúngica cultivable en cuatro localidades de Hermosillo, Sonora. Muchos de los géneros aislados de suelos del desierto tienen distribución mundial, por lo cual, no se considera que exista una micobiota fúngica característica.

En un estudio realizado en el desierto de Sonora por Ranzoni (1968), se aislaron 107 géneros de hongos de 24 localidades, con 229 especies sin incluir al género *Phoma*, micelio estéril y micelio basidiomiceto. El estudio incluyó cinco métodos de aislamiento y cinco medios de cultivo (Ranzoni, 1968). En éste trabajo únicamente se utilizó un método de aislamiento (placa de Warcup, 1951) y cuatro medios de cultivo, lo que pudo haber disminuido la diversidad de hongos en los sitios o simplemente la clasificación actual de los géneros y especies, dista mucho de lo conocido en el año 1968. Pues el número de géneros aislados por Ranzoni (1968) fue mayor a lo reportado en este trabajo.

Conforme a los resultados de pH del suelo, estos concuerdan con los obtenidos en otros estudios de suelos del desierto (López *et al.*, 2003). Los valores de pH registrados en este trabajo son altos (alcalinos). El pH elevado de los suelos ocasiona dificultades para la adquisición de elementos esenciales en el desarrollo de los hongos, por ejemplo, provoca la precipitación de Ca^{2+} y Mg^{2+} a compuestos insolubles y ésta reacción influye de manera notable en la disponibilidad de estos elementos para los organismos (López *et al.*, 2003).

Aspergillus spp., al presentarse en todas las muestras, podrían señalarse como las colonias menos sensibles a los valores de pH. Seguido de *Chaetomium* spp. y *Penicillium* spp., que se encuentran relacionadas con un pH alcalino, 8.0 - 10.2 y 8.1 - 10.2, respectivamente. Cabe resaltar que en el sitio H5 de la Localidad de ERNO (con un pH de 7) estos organismos no se identificaron, aunque se aislaron 11 géneros distintos (el mayor número de géneros aislados dentro de los sitios estudiados). Lo cual sugiere que puede haber mayor competencia y por tanto las colonias de *Chaetomium* y *Penicillium* no se establecen. Se puede señalar que los

géneros *Cunninghamella*, *Malbranchea* y *Trichoderma* presentaron organismos mucho más susceptibles a un valor alto de pH, pues las colonias de dichos géneros fueron aisladas exclusivamente del sitio con pH neutro.

La conductividad eléctrica en los suelos de Hermosillo, Sonora, se encontró entre 60.6 y 177.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$, datos que, comparados con otros estudios, se deduce que los suelos de Hermosillo tienen medidas de CE muy parecidas a los suelos agrícolas de la región. La mayor diversidad de colonias de distintos géneros se encontró en la Localidad de ERNO (H5), la cual, presentó un valor de CE de 129.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$, el valor más próximo a éste fue el de la localidad de Sahuaro (H2) con 138.7 $\mu\text{S}/\text{cm}$, que además, fue el segundo sitio más rico en colonias de distintos géneros. Por lo cual, y resaltando que en ambos sitios se encontraron organismos pertenecientes al filo Zygomycota, el número de géneros diferentes en esta región se encuentra relacionado de forma directa con el valor de pH, seguido del valor CE, y esta última determina la presencia o ausencia de organismos incluidos en los géneros *Absidia* y *Cunninghamella*. En cuanto a las colonias de *Aspergillus*, *Chaetomium* y *Penicillium*, no mostraron preferencias o rangos específicos de CE. Todos los hongos aislados del sitio con mayor valor de CE (177 $\mu\text{S}/\text{cm}$) fueron aislados de otros sitios de muestreo, contrario a lo que sucedió con aquellos con menores valores de CE (60.6 y 65.8 $\mu\text{S}/\text{cm}$) donde se aislaron colonias exclusivas sin identificar.

El hallazgo de colonias de *Aspergillus* en las cuatro localidades concuerda por lo publicado en otros trabajos efectuados fuera de México (Sterflinger *et al.*, 2012) e incluso en Sonora (Ranzoni, 1968) los cuales señalan que en las investigaciones de micobiota del suelo del desierto, se encuentra dominada por ascomicetos con un claro dominio del género *Aspergillus* y sus formas sexuales *Emericella nidulans*, *Eurotium amstelodami*, *E. chevalieri* y *Penicillium* spp., además de *Chaetomium* spp.

Se ha reportado que en las áreas desérticas en los sitios cubiertos por vegetación, la densidad de hongos es mayor y se recobran más *Penicillium* spp. que en sitios sin vegetación

en donde dominan hongos con micelio oscuro y esporas de varias células (Grishkan *et al.*, 2003; Samaniego y Chew, 2007). Bajo este contexto, se habría esperado aislar a *Penicillium* spp. en la localidad de Los Arcos (H6), pues presentaba una cubierta vegetal, sin embargo, el género se registró en Sahuaro y Aeropuerto, la primera sin cubierta vegetal relacionada con un predio baldío y la segunda, con un área sin influencia antropogénica, aporte de agua significativo y cercana a una madriguera. Por lo que la microbiota de la región está influenciada principalmente por las propiedades del suelo seguido de la cubierta vegetal, lo cual, concuerda con otros estudios hechos en pastizales (Yang, 2017). Deben de existir condiciones ecológicas adicionales que pudieran estar interviniendo en su desarrollo en la localidad de Los Arcos (H6), área aparentemente con las condiciones adecuadas para el género. Cabe resaltar que en dicha localidad se registraron colonias de *Alternaria*, hongo de micelio oscuro y esporas de varias células que tienden a relacionarse más con sitios sin vegetación. También se aislaron colonias de *Aspergillus*, *Fusarium* y *Paecilomyces*, y ninguno fue exclusivo para la zona. Si comparamos estos resultados con los de ERNO (H5), en el cual, las condiciones eran adversas en cuanto al microambiente y la disponibilidad de nutrientes debido a la poca cubierta vegetal, resalta que el valor de pH es crucial para el óptimo desarrollo de estos microorganismos. En Los Arcos (H6) el valor de pH fue de 9.4 y en ERNO (H5) de 7, en este caso, el valor neutro se relacionó con mayor número de colonias aisladas incluidas en diversos géneros, contrario a lo que se reportó en un estudio realizado al sur de Hermosillo, Sonora (1965), en dónde se identificó un valor de pH de 6.4 y se calcularon 3,000 hongos por gramo de suelo, opuesto a lo que sucedió al norte, con un pH de 8.4 y 6,700 hongos por gramo de suelo seco (Ranzoni, 1968).

Colonias del género *Chaetomium* fueron aisladas en esta investigación en cuatro de las ocho muestras estudiadas. Se ha observado que muchos de los hongos aislados de los suelos pueden no ser verdaderos hongos del suelo (Ranzoni, 1968), como podría ser el caso de *Chaetomium*, ya que al ser celulolíticos se desarrollan en los tejidos de las plantas principalmente, y en ocasiones, en la celulosa disponible en el suelo.

Las especies de *Malbranchea* (anamorfos de *Uncinocarpus reesii*) presentan una gran similitud con las colonias de *Coccidioides* en la forma de conidiación, son morfológicamente muy parecidos y están estrechamente relacionadas filogenéticamente (Taylor y Barker, 2019). *Malbranchea* sp. fue aislada en la localidad ERNO, siendo la única muestra con un valor tan alejado del alcalino, incluso neutro. Lo que confirma que el valor de pH del suelo afecta la actividad de algunos microorganismos y la disponibilidad de nutrientes para su desarrollo.

La localidad de Sahuaro (H1 – H4) corresponde a dos predios baldíos, rodeados de viviendas y sin cobertura vegetal. Únicamente en la muestra H3 se aisló una colonia del género *Trichoderma*, la cual no es típica de ecosistemas desérticos, aunque fueron aisladas colonias en dos sitios de Laguna, México y en una zona desértica de Arizona en EE. UU, estos sitios eran utilizados para el cultivo de nogal y vid, respectivamente (Samaniego y Chew, 2007). El aporte de agua y nutrientes por la materia vegetal presente en los campos pueden ser factores que influyen en la presencia del género en estos sitios, sin embargo, dichas condiciones no se presentaron en el suelo de la muestra H3. Cabe resaltar que las colonias incluidas en el género se relacionan con suelos húmedos y ácidos, son ampliamente estudiadas y aplicadas como control biológico debido a su capacidad reproductiva, plasticidad ecológica, efecto estimulante sobre cultivos y como inductoras de resistencia sistémica en la planta a diferentes patógenos (Watanabe, 2010; Samaniego y Chew, 2007; Infante *et al.*, 2009).

En la localidad de Aeropuerto, integrada por dos muestras cercanas a madrigueras de roedores y al pertenecer a una zona de superposición de variables ambientales referidas para los *Coccidioides*, las colonias aisladas representaron a los géneros: *Acremonium*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Fusarium* y *Penicillium*, además de colonias sin identificar que presentaron características fenotípicas peculiares en comparación a las recobradas en las localidades restantes.

A pesar de haberse tomado acciones para que los muestreos fueran exitosos, no se logró el aislamiento de colonias de *Coccidioides*. Su nula identificación puede estar relacionada con la ausencia del agente en las muestras o a que éste necesita estímulos específicos para la germinación, crecimiento y fragmentación (generación de arthroconidios). Aunque se desconoce el tiempo que se requiere *in situ* para que la viabilidad se pierda, sin duda varía con las diferentes circunstancias ambientales.

Actualmente se ha desarrollado una hipótesis alternativa al ciclo de vida de *Coccidioides* spp., en la cual se postula que éstos organismos viven en pequeños mamíferos como endozoos, que se mantienen inactivos pero vivos en los granulomas dentro del huésped y se transforman en micelio y arthrocononidios cuando éste muere, dejando atrás la hipótesis predominante de que *C. immitis* y *C. posadasii* son hongos del suelo endémicos de las regiones cálidas, secas y saladas y que los humanos y la fauna local de pequeños mamíferos son solo hospederos accidentales (Taylor y Barker, 2019).

El aislamiento de colonias de hongos de áreas poli-extremas como Hermosillo, Sonora, puede ayudar a conocer las complejas redes e interacciones que suceden en el ambiente asociado a la coccidioidomicosis. De acuerdo a los estudios realizados de genómica, se ha observado que las colonias de *Coccidioides* han perdido genes relacionados con la degradación de tejido vegetal y han adicionado copias de aquellos que codifican a enzimas que permiten al hongo digerir proteínas animales (Taylor y Barker, 2019). Por lo cual, podemos considerar que la microbiota aislada puede estar representada por aquellos hongos que fueron competidores naturales de los *Coccidioides*.

En un estudio *in vitro* realizado por Lauer *et al.*, (2019) se demostró que, entre otras bacterias, los géneros *Streptomyces* y *Bacillus* inhiben el crecimiento de *Coccidioides* spp. sobre ese mismo escenario, se deberán investigar las interacciones de hongos asociados a la zona endémica de la coccidioidomicosis y explicar la falta del cultivo de *Coccidioides* spp.

10. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio apuntan a varias posibilidades que explicarían la ausencia de *Coccidioides* spp. en una región considerada altamente endémica de coccidioidomicosis:

- La microbiota cultivable a partir de suelos de regiones con climas secos áridos y semiáridos, es abundante, especialmente representada por organismos de crecimiento rápido como *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp., lo cual aumenta la competencia por espacio y hongos de crecimiento más lento, como *Coccidioides*, motivo por el cual es difícil su aislamiento por cultivo *in vitro*.
- Se observó que, aunque las cuatro zonas muestreadas comparten características ecológicas muy similares o incluso iguales, la medida de Conductividad Eléctrica (CE) es muy variable aún dentro de la misma localidad. El contenido de sales, medidos por la CE, impacta en la calidad de los suelos y entre mayor es la CE los organismos se esfuerzan más por obtener los nutrientes del suelo. Lo cual podría ser un motivo abiótico que impide el establecimiento y desarrollo de *Coccidioides* spp. en ese ambiente, aunque se cumplan otras condiciones ecológicas que favorecerían su presencia.
- Los muestreos se hicieron en zonas urbanas- suburbanas de la ciudad de Hermosillo, por lo que no debe desestimarse la influencia antropogénica, que crea un desequilibrio en el ambiente natural de los organismos nativos, entre los cuales estarían *Coccidioides* spp.
- No encontrar a *Coccidioides* spp. en zonas de alta probabilidad de aislamiento, podría sostener la hipótesis de que ha dejado de ser un hongo saprobio de los suelos y ha pasado a ser un endozoo; sin embargo, la presencia de personas positivas a coccidioidina nos indican que, aunque temporalmente, el hongo está en el ambiente, probablemente no en el suelo, pero sí en las plantas o en el aire que permitan su dispersión para encontrar nuevos huéspedes que sustenten su ciclo de vida.
- La presencia de *Coccidioides* spp. puede estar limitada por la difusión en el ambiente de moléculas, tipo toxinas, producidas por otros de los hongos que comparten el

hábitat. Habrá que investigar la presencia de compuestos bioreactivos en las colonias aisladas en este estudio y su impacto en el crecimiento de *Coccidioides* spp.

Respecto a la micobiota:

- Como en otros estudios, se confirma la alta frecuencia de aislamiento de colonias pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Chaetomium*.
- Se informa de 15 géneros fúngicos y micelio estéril de ocho puntos de muestreo de suelos con características físicas referidas para el género *Coccidioides* en Hermosillo, Sonora.
- Este estudio permitió identificar la presencia de *Trichoderma* sp., el cual no se considera típico de suelos del desierto. Indicio de que las condiciones ambientales están cambiando y permitiendo la redistribución espacial de ciertos organismos no nativos.
- Los hongos, como otros organismos, son vulnerables a los cambios ambientales, los cuales pueden redistribuir espacialmente a las especies nativas o simplemente extinguir las. Conocer al menos qué micobiota predomina en un ambiente de clima seco contribuye a caracterizar y ubicar ecosistemas de los cuales forman parte, así como poder estimar variabilidad genética y procesos evolutivos.
- Se obtuvieron aislamientos de hongos que pueden ser fuente potencial de metabolitos secundarios novedosos y con diversa actividad biológica.

11. PERSPECTIVAS A FUTURO

Se deberá explorar más a fondo las relaciones bióticas de *Coccidioides* en su entorno silvestre:

- Haciendo muestreos de suelos, vegetales y aire de regiones naturales sin perturbación antropogénica, con superposición de variables ambientales referidas para el género y cercanas a madrigueras de roedores en las áreas desérticas y de fácil acceso en Sonora, México.
- Buscar anticuerpos anti-*Coccidioides* en muestras de sueros de roedores silvestres de áreas desérticas en Sonora, México.
- Se deberán realizar pruebas biológicas de inhibición de *Coccidioides* de forma directa o por medio de extractos de las colonias aisladas en este trabajo en busca de metabolitos bioactivos novedosos.

Se deberán utilizar métodos moleculares (bioquímicos o genéticos) para clasificar los hongos que no pueden identificarse solo por morfología.

12. REFERENCIAS

- Araujo, V., Esqueda, M., Pérez, E., Villegas, R.E., (1995). *Macromicetos de zonas urbanas. II: Hermosillo, Sonora, México*. Revista mexicana de micología, 11, 122-132.
- Baptista, R. C., Hinojosa, A., & Riquelme, M. (2007). *Ecological niche modeling of Coccidioides spp. in western North American deserts*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1111(1), 35-46.
- Baptista, R. C., Arellano, E., Hinojosa, A., & Riquelme, M. (2010). *Bioclimatología de la coccidioidomycosis en Baja California, México*. Investigaciones geográficas, (71), 21-30.
- Barragan, E., (2018). Características clínicas de pacientes con diagnóstico de coccidioidomycosis atendidos en el Hospital Infantil del Estado de Sonora durante el periodo 2007-2017. Especialidad de Pediatría. UNAM. Repositorio Institucional de la UNAM.
- Bialek, R., Kern, J., Herrmann, T., Tijerina, R., Cecenas, L., Reischl, U., & González, G. M. (2004). *PCR assays for identification of Coccidioides posadasii based on the nucleotide sequence of the antigen 2/proline-rich antigen*. Journal of Clinical Microbiology, 42(2), 778-783.
- Bridge, P., & Spooner, B. (2001). *Soil fungi: diversity and detection*. Plant and soil, 232(1), 147-154.
- Castañón, L.R., Aroch, A., Bazán, E., Córdova, E., (2004). *Coccidioidomycosis in Mexico*. Revista de la Facultad de Medicina UNAM, 47(4), 145-148.
- Catalán, J., Johnson, S. M., Eaton, R., Romero, A. L., Baptista, R. C., Pappagianis, D., & Riquelme, M. (2014). *Detection of coccidioidal antibodies in serum of a small rodent community in Baja California, Mexico*. Fungal biology, 118(3), 330-339.
- Castillo, M., Castañón, L., R., Rivera, H., (2019). *El impacto de las condiciones ambientales en la respuesta a la intradermorreacción con coccidioidina en personas de Hermosillo, Son.* X Congreso Nacional de Micología Médica. Oaxtepec, Mor.
- De Capriles, C. H., Mata, S., & Middelveen, M. (1989). *Preservation of fungi in water (Castellani): 20 years*. Mycopathologia, 106(2), 73-79.

- Fisher, F. S., Bultman, M. W., Johnson, S. M., Pappagianis, D., & Zaborsky, E. (2007). *Coccidioides niches and habitat parameters in the southwestern United States: a matter of scale*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1111(1), 47-72.
- Galeana, J. M., Martínez, G. C., González, M.R., Flores, M., A., Durán, A., Castañón, L.R., (2009). *Coccidioides species, potential natural reservoir in Comarca Lagunera, Mexico*. 53TH Meeting Coccidioidomycosis Study Group. Bakersfield, Cal. USA.
- González, A., (1968). *La importancia médica de la coccidioidomycosis en la frontera entre México y Estados Unidos de América*. Salud Pública de México, 10(3), 319_326-319_326.
- Grishkan, I., Nevo, E., & Wasser, S. P. (2003). *Soil micromycete diversity in the hypersaline Dead Sea coastal area, Israel*. Mycological Progress, 2(1), 19-28.
- Gutiérrez, O., Coronado, M. L., Sánchez, F., Sánchez, A., Gutiérrez, A., & Esqueda, M. (2018). *Abundancia de bacterias y hongos rizosféricos asociados con Fouquieria columnaris en Punta Cirio, Sonora, México*. Revista Mexicana de Biodiversidad, 89(2), 541-552.
- Hemida, S. K., (1992). *Thermophilic and thermotolerant fungi isolated from cultivated and desert soils, exposed continuously to cement dust particles in Egypt*. Zentralblatt für Mikrobiologie, 147(3-4), 277-281.
- Herrera, T., & Ulloa, M. (1998). *El reino de los hongos: micología básica y aplicada* (No. 589.2 H565r). México, MX: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hubka, V., Kolařík, M., Kubátová, A., & Peterson, S. W. (2013). *Taxonomic revision of Eurotium and transfer of species to Aspergillus*. Mycologia, 105(4), 912-937.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (México) (INEGI), (2017). *Anuario estadístico y geográfico de Sonora 2017*. Recuperado el 18 de mayo de 2021 de: http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/Productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/anuarios_2017/702825094904.pdf
- Infante, D., Martínez, B., González, N., y Reyes, Y. (2009). *Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos*. Revista de protección vegetal, 24(1), 14-21.

- Johnson, R. M., Ramond, J. B., Gunnigle, E., Seely, M., & Cowan, D. A. (2017). *Namib Desert edaphic bacterial, fungal and archaeal communities assemble through deterministic processes but are influenced by different abiotic parameters*. *Extremophiles*, 21(2), 381-392.
- Larone, D.H., (2011). *Medically Important Fungi. A guide to identification*. 5ta Ed. Estados Unidos: ASM Press.
- Lauer, A., Baal, J. D., Mendes, S. D., Casimiro, K. N., Passaglia, A. K., Valenzuela, A. H., & Guibert, G. (2019). *Valley fever on the rise—Searching for microbial antagonists to the fungal pathogen Coccidioides immitis*. *Microorganisms*, 7(2), 31.
- Levine, H. B., González Ochoa, A., & Ten Eyck, D. R. (1973). *Sensibilidad cutánea al C. immitis. Comparación entre la reacción a la esferulina ya la coccidioidina en el hombre*. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)*; 74 (3), mar. 1973.
- López, M., Poch, R. M., & Porta, J., (2019). *Edafología: uso y protección de suelos*. España: Mundi-Prensa Libros.
- López, R., Villavicencio, E., Real, M. A., Ramírez, J. L., & Murillo, B. (2003). *Macronutrientes en suelos de desierto con potencial agrícola*. *Terra latinoamericana*, 21(3), 333-340.
- Maddy, K. T., & Coccozza, J., (1964). *The probable geographic distribution of Coccidioides immitis in Mexico*. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)*; 57 (1), jul. 1964. 44-54
- Mayol, M. B., Costa, J. L., Cabria, F. N., Aparicio, V. C., (2012). *Relación entre la variabilidad espacial de la conductividad eléctrica y el contenido de sodio del suelo*. *Ciencia del suelo*, 30(2).
- Nguyen, C., Barker, B. M., Hoover, S., Nix, D. E., Ampel, N. M., Frelinger, J. A., Orbach M. J., & Galgiani, J. N. (2013). *Recent advances in our understanding of the environmental, epidemiological, immunological, and clinical dimensions of coccidioidomycosis*. *Clinical microbiology reviews*, 26(3), 505-525.
- Nguyen, T. T., Choi, Y. J., & Lee, H. B. (2017). *Isolation and characterization of three unrecorded Zygomycete fungi in Korea: Cunninghamella bertholletiae,*

- Cunninghamella echinulata*, and *Cunninghamella elegans*. *Mycobiology*, 45(4), 318-326.
- Ortiz, V., Lares, F., Nevárez, L., Reyna, J., Munguía, J., Ibarra, J. (2015). *Estudios anatómico patológicos, serológicos e histopatológicos de perros positivos a Coccidioidomycosis infectados naturalmente*. *Abanico veterinario*, 5(1), 13-25.
 - Osorio, N. W., (2012). *pH del suelo y disponibilidad de nutrientes*. *Manejo Integral del Suelo y Nutrición Vegetal*, 1(4), 1-4.
 - Pfenning, L. H., & Abreu, L. M. (2000). *Hongos del suelo saprófitos y patógenos de plantas*. *Manual de Biología de Suelos Tropicales*; Instituto Nacional de Ecología: México city, Mexico, 243-280.
 - Ranzoni, F. V., (1968). *Fungi isolated in culture from soils of the Sonoran Desert*. *Mycologia*, 60(2), 356-371.
 - Rippon, J. W., (1982). *Medical mycology; the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes*. Eastbourne, UK; WB Saunders Company.
 - Samaniego, J. A., & Chew, Y. (2007). *Diversidad de géneros de hongos del suelo en tres campos con diferente condición agrícola en La Laguna, México*. *Revista mexicana de biodiversidad*, 78(2), 383-390.
 - Santiago, I. F., Gonçalves, V. N., Gómez, B., Galetovic, A., & Rosa, L. H. (2018). *Fungal diversity in the Atacama Desert*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 111(8), 1345-1360.
 - Siqueira, G. M., (2010). *Medida de la conductividad eléctrica aparente del suelo por inducción electromagnética y variabilidad espacial de propiedades físicas y químicas del suelo*. Universidad de Santiago de Compostela.
 - Sterflinger, K., Tesei, D., & Zakharova, K. (2012). *Fungi in hot and cold deserts with particular reference to microcolonial fungi*. *Fungal ecology*, 5(4), 453-462.
 - St-Germain, G. y Summerbell, R. C. (2011). *Identifying fungi: a clinical laboratory handbook*. Star Pub.
 - Swatek, F. E., & Omieczynski, D. T. (1970). *Isolation and identification of Coccidioides immitis from natural sources*. *Mycopathologia et mycologia applicata*, 41(1-2), 155-166.

- Taylor, J. W., & Barker, B. M. (2019). *The endozoan, small-mammal reservoir hypothesis and the life cycle of Coccidioides species*. *Medical mycology*, 57 (Supplement_1), S16-S20.
- Trejo, A.G., (2015). *Coccidioidomycosis en una zona endémica de México: Revisión de casos del Servicio de Infectología en el Hospital General del Estado de Sonora del año 2006 al 2013*. Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica, AC. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 35(1), 1.
- Verduzco, G., E., (1971). *Epidemiología de la coccidioidomycosis en México*. *Salud pública de México*, 13(1), 23-31
- Warcup, J. H. (1951). *The ecology of soil fungi*. *Transactions of the British Mycological Society*, 34(3), 376-399.
- Watanabe, T., (2010). *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. Japón: CRC press.
- Welsh, O., Vera, L., Rendon, A., Gonzalez, G., & Bonifaz, A. (2012). *Coccidioidomycosis*. *Clinics in dermatology*, 30(6), 573-591.
- Witfeld, F., Begerow, D., & Guerreiro, M. A. (2021). *Improved strategies to efficiently isolate thermophilic, thermotolerant, and heat-resistant fungi from compost and soil*. *Mycological Progress*, 20(3), 325-339.