



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Evaluación del uso potencial de micromicetes
aislados de ventilas hidrotermales del Golfo de
California, México para la degradación de
plásticos sintéticos y biodegradables

T E S I S

Que para obtener el título de BIÓLOGA

P R E S E N T A :

Romina Ojeda García



Tutora:

Dra. Patricia Vélez Aguilar

Co-tutora:

Dra. Diana Leticia Salcedo Oropeza

Ciudad Universitaria, Ciudad de México.

2023



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.

| | |
|--|---|
| 1. Datos de la alumna Apellido Paterno Apellido Materno Nombre Teléfono Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias Carrera Número de cuenta | Ojeda García Romina 5517304615 Biología 313206616 |
| 2. Datos de tutora Grado Nombre Apellido paterno Apellido materno | Dra. Patricia Vélez Aguilar |
| 3. Datos de sinodal 1 Grado Nombre Apellido paterno Apellido materno | Dra. Diana Leticia Salcedo Oropeza |
| 4. Datos del sinodal 2 Grado Nombre Apellido paterno Apellido materno | Dra. Laura Espinosa Asuar |
| 5. Datos del sinodal 3 Grado Nombre Apellido paterno Apellido materno | Dr. Jorge Feliciano Ontiveros Cuadras |
| 6. Datos del sinodal 4 Grado Nombre Apellido paterno Apellido materno | Dr. Sigfrido Sierra Galván |
| 9. Datos del trabajo escrito Título Número de páginas Año | Evaluación del uso potencial de micromicetes aislados de ventilas hidrotermales del Golfo de California, México para la degradación de plásticos sintéticos y biodegradables 95 pp 2023 |

Esta investigación se realizó en el laboratorio C-121 del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, y formó parte del proyecto “Evaluación de la diversidad taxonómica y funcional de las comunidades de micromicetes en sistemas hidrotermales de mar profundo al sur del Golfo de California” Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT (Clave: IN200921)

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, en cuyos espacios he podido sembrar mi apetito de curiosidad, asombro y ocio ilustrativo. Por constituir una fuente provechosa e inagotable de estímulos y por ser el telón de fondo de este logro académico. Por los años que he disfrutado recorriendo y conociendo cada uno de sus rincones.

A la Facultad de Ciencias y al Instituto de Biología, por las diversas manifestaciones del saber que transitan dentro y fuera de sus aulas y que invaluablemente contribuyeron en mi desarrollo académico y profesional.

De manera muy especial agradezco a la Dra. Patricia Vélez Aguilar y a la Dra. Diana Leticia Salcedo Oropeza, quienes desde el inicio emprendieron la tarea de asesorar y guiar este proyecto con un compromiso y una ética profesional excepcionales. Agradezco a ellas el haberme tendido un sólido puente de confianza, apoyo y comunicación. Gracias por mostrarme que la ciencia, además de rigurosa e inclusiva, también tiene una dimensión sensible desde la cuál podemos expresarnos de manera creativa y sincera.

También agradezco con especial afecto a Francisco Javier Cruz Mena, mi asesor de servicio social, por su generosidad desbordada. La atmósfera intelectual que surgió en cada encuentro motivó siempre profundos cuestionamientos a mi forma de pensar la ciencia y en especial, el periodismo *de* ciencia. Mi estancia en la Unidad de Periodismo me permitió cultivar el valor de la argumentación y la investigación. Sin lo aprendido en este sitio, mi visión de la ciencia sería menos rigurosa y más estrecha, incluyendo este trabajo.

Mis agradecimientos prosiguen con el resto de las personas integran mi jurado y cuyas valiosas aportaciones, han dotado a este manuscrito de mayor claridad, estructura y precisión: la Dra. Laura Espinosa Asuar, el Dr. Jorge Feliciano Ontiveros Cuadras, el Dr. Sigfrido Sierra Galván y la Dra. Diana Leticia Salcedo Oropeza.

Agradezco también al Dr. Luis Arturo Soto González por las facilidades brindadas, en su momento, para la obtención de las muestras de sedimentos del Golfo de California. A la Dra. Lidia Cabrera, la M. en C. María Berenit, el Dr. Jaime Gasca, la Biól. Alejandra Barrios Flores, la M. en C. Jesica Abril Hernández Monroy y al M. en C. Julio César Olguin Galindo, por su apoyo técnico durante el desarrollo experimental de este proyecto.

Al proyecto “Evaluación de la diversidad taxonómica y funcional de las comunidades de micromicetes en sistemas hidrotermales de mar profundo al sur del Golfo de California” Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT (Clave: IN200921).

Finalmente agradezco a todas las personas que forman parte el laboratorio C-121 del Instituto de Biología, en quienes encontré siempre una amistad sincera y un reflejo auténtico del trabajo en equipo. Gracias por todas sus muestras de afecto y apoyo incondicional. A lo largo de estos años mi admiración hacia ustedes no ha cesado de crecer.

Agradecimientos a título personal

Antoine de Saint-Exupéry escribió alguna vez: “Somos responsables de lo que amamos para siempre... y sólo con el corazón se puede ver bien; lo *esencial* es invisible a los ojos.”

Con especial afecto y la más grande expresión de gratitud dedico este trabajo a las personas que constituyen la *esencia* de un mundo: el mío. Inquebrantable ante el inexorable paso del tiempo, este mundo de sólidos pilares asentados en la fraternidad, el diálogo, la confianza y el respeto, constituye un reflejo de lo que más me importa en la vida.

A Estela García, creadora de un mundo donde prospera el amor, la empatía, el cuidado y la comprensión. Gracias por dar sentido a mi vida y hacerla memorable. La culminación de este trabajo es un reflejo de tu apoyo incondicional. Sin él, todo falta, y a su luz, todo tiene sentido. Todo esto es tuyo también, mamá.

A Alberta Gutiérrez, por abrazar el mundo con cariño, nobleza y una gran sensibilidad. Por ser el núcleo amoroso de la familia. Por tu continua presencia en mi vida.

A mi hermana Ravel, una auténtica librepensadora cuyo mundo aterriza siempre en apasionantes conversaciones y grandes dilemas. A la luz de un futuro más incluyente, agradezco recorrer contigo este pasaje simbiótico de la vida.

Agradezco por igual al resto de mi familia, en cuyos hombros descansa también el esfuerzo compartido de este trabajo. A José, mi abuelo, por sus destellos de bondad, cuidados y afectos en cada etapa de mi vida. A mis tías y tíos, por impulsar alegrías y enseñanzas bien fundamentadas a lo largo de mi vida. Por la dicha de compartir el mundo con ustedes.

A mi padre, Leobardo Ojeda, por el legado de un espíritu rebelde, de libros y de entrañables tertulias. Gracias por honrar la condición humana desde la intelectualidad, por ser un incitador de las buenas causas y por todo el afecto.

A las amistades que he forjado a lo largo de estos años, auténticas todas, con la seguridad de que sabrán reconocerse en estas líneas.

A Diego: un mundo de dos líneas que han convergido para fundirse en un punto de fuga. No podía saberse. Con sumo cariño.

A painting depicting a young child with dark hair, seen from behind, standing on a beach. The child is wearing a light-colored, short-sleeved shirt. The beach is heavily littered with various pieces of plastic waste, including crumpled paper, bottle caps, and other debris. The background shows the ocean with waves breaking. The overall tone is somber and reflective, highlighting the impact of pollution.

“Si he alcanzado a ver más lejos es porque estoy parado en los hombros de gigantes.”

Isaac Newton

Imagen creada con la ayuda de Dall-e 2

ÍNDICE

| | |
|---|------|
| Abreviaturas | x |
| Resumen | xi |
| Abstract | xiii |
| 1. Introducción | |
| 1.1 Sistemas hidrotermales | 1 |
| 1.1.1 Características generales | 1 |
| 1.2 Hongos que habitan ambientes marinos | 3 |
| 1.2.1 Diversidad fúngica en mar profundo y sistemas hidrotermales | 5 |
| 1.3 Plásticos | 6 |
| 1.3.1 Características generales | 6 |
| 1.3.2 Polietileno (PE) | 7 |
| 1.3.3 Plásticos biodegradables y no biodegradables | 8 |
| 1.4 Contaminación plástica e impactos ambientales | 10 |
| 1.5 Degradación de plásticos | 12 |
| 1.5.1 Los hongos y su potencial micodegradador de plásticos | 14 |
| 2. Antecedentes | |
| 2.1 Exploración de sistemas hidrotermales en el Golfo de California | 15 |
| 2.2 Diversidad de hongos marinos en los sistemas hidrotermales del sur del Golfo de California | 17 |
| 3. Justificación | 17 |
| 4. Objetivos | |
| 4.1 Objetivo General | 18 |
| 4.2 Objetivos Particulares | 19 |
| 5. Hipótesis | 19 |
| 6. Materiales y métodos | |
| 6.1 Localidades de origen de los aislados | 19 |
| 6.1.1 Golfo de California (GoC) | 20 |
| 6.1.2 Cuenca Pescadero (CP) | 20 |
| 6.1.3 Falla transformante de Pescadero (FTP) | 21 |
| 6.2 Selección de aislados y ensayos de viabilidad | 22 |
| 6.3 Selección y preparación de sustratos plásticos | 23 |
| 6.4 Bioensayos de tolerancia ante la presencia de sustratos plásticos | 25 |

| | |
|--|----|
| 6.5 Bioensayos de degradación <i>in vitro</i> de los sustratos plásticos | 28 |
| 6.6 Análisis estadísticos | 31 |
| 6.6.1 Análisis de varianza con permutaciones PERMANOVA | 31 |
| 6.7 Diseño experimental | 32 |
| 6.7.1 PERMANOVA masa perdida de sustratos plásticos | 32 |
| 6.7.2 PERMANOVA biomasa fúngica | 32 |
| 7. Resultados | |
| 7.1 Tolerancia a la presencia de los sustratos plásticos | 33 |
| 7.1.1 Micrografías obtenidas con microscopía electrónica de barrido en los bioensayos de tolerancia | 37 |
| 7.2 Ensayos de degradación <i>in vitro</i> | 42 |
| 7.2.1 Micrografías obtenidas con microscopía electrónica de barrido en los bioensayos de degradación | 43 |
| 7.2.2 Determinación de la pérdida de masa de las muestras plásticas y cuantificación de la biomasa fúngica | 49 |
| 7.2.3 Análisis PERMANOVA | 52 |
| 8. Discusión | 55 |
| 9. Conclusiones | 62 |
| 10. Referencias bibliográficas | 63 |
| 11. Apéndice | 81 |

Abreviaturas

ADN. Ácido desoxirribonucleico

BBP. Plástico de base biológica

BD. Biodegradable

BDFM. Plástico biodegradable de fécula de maíz

CBB. Ciclo Calvin-Benson-Bassham

CP. Cuenca de Pescadero

Cplas. Carbono plástico

DA. Dorsal Alarcón

FTP. Falla Transformante de Pescadero

GoC. Golfo de California

GtCO₂ e. Gigatoneladas de dióxido de carbono equivalente

HDPE. Polietileno de alta densidad

ITS. Región espaciadora interna transcrita

LDPE. Polietileno de baja densidad

LLPE. Polietileno lineal de baja densidad

MP. Microplásticos

Mt². Millones de toneladas métricas

PCR. Reacción en cadena de la polimerasa

PE. Polietileno

PS. Poliestireno

rTCA. Ciclo del ácido tricarbóxico inverso

SEM. Microscopía electrónica de barrido

SPI. Sociedad de la industria de plásticos

RESUMEN

La contaminación plástica constituye un problema ambiental de magnitud global debido a que la gran mayoría de los residuos plásticos generados hoy en día circulan, se acumulan y persisten en el ambiente, convirtiéndose en contaminantes antropogénicos ubicuos en entornos terrestres, acuáticos e incluso aéreos. Estos residuos impactan negativamente la salud humana, la biodiversidad y la funcionalidad de los ecosistemas, siendo el océano el destino final y el principal reservorio estos contaminantes. La gestión de los residuos plásticos se ha centrado en métodos físicos y químicos, pero la degradación microbiana constituye una alternativa novedosa y sostenible para hacer frente a la contaminación plástica debido a que las vías de degradación pueden llevar a una transformación y mineralización, completa o parcial, de polímeros sintéticos como los plásticos. Es en este contexto que el estudio de microorganismos con el potencial de degradar plásticos se vuelve relevante. Los hongos marinos representan recursos biológicos poco explorados, pero de gran interés para estudiar su capacidad micodegradadora debido a que poseen moléculas bioactivas, metabolismos y adaptaciones que pueden diferir de las observadas en sus contrapartes terrestres, por lo que la prospección de estos recursos abre una nueva vía de estudio en el campo de la micología marina. En el presente estudio se evaluó la capacidad de tres aislados fúngicos (*Pleosporales* sp., *Aspergillus terreus* y *Eurotiales* sp.), provenientes de ventilas hidrotermales de mar profundo al sur del Golfo de California, para deteriorar y degradar tres plásticos sintéticos de polietileno con diferentes densidades de resina: polietileno de alta densidad (HDPE), polietileno de baja densidad (LDPE) y polietileno lineal de baja densidad (LLDPE), así como un plástico biodegradable de fécula de maíz (BDFM). Inicialmente, se establecieron bioensayos de tolerancia para evaluar la respuesta de los micromicetes a la presencia de sustratos plásticos. Posteriormente, los micromicetes que mostraron tolerancia a los distintos plásticos se emplearon en bioensayos de degradación considerando dos condiciones experimentales: 1) plásticos que recibieron un pretratamiento abiótico de exposición a radiación ultravioleta y 2) plásticos sin pretratamiento abiótico. En ambos casos se cuantificó la biomasa fúngica producida y la pérdida de masa de los sustratos plásticos y se realizó un análisis de PERMANOVA. Adicionalmente las superficies de los plásticos se analizaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Los resultados revelaron que todos los aislados crecieron en presencia de plásticos biodegradables y no biodegradables, al tiempo que deterioraron a dichos sustratos. Además, los factores predominantes en la

biodegradación de acuerdo con el análisis PERMANOVA corresponden al tipo de plástico y al pretratamiento. *Eurotiales* sp. produjo la mayor cantidad de micelio al tiempo que ocasionó la mayor pérdida de masa plástica, particularmente en plásticos de polietileno de alta densidad irradiados. Por su parte, *A. terreus* desarrolló una complejidad morfológica destacable con micelios y abundantes conidióforos en tres de los cuatro sustratos plásticos (HDPE, BDFM y LDPE). Por lo anterior, proponemos a ambos aislados como potenciales degradadores de plásticos de base biológica y fósil. Finalmente, y en cuanto a los plásticos utilizados como sustratos, los plásticos de polietileno de alta densidad y de base biológica mostraron la mayor tasa de degradación y biodeterioro, particularmente los plásticos HDPE irradiados, demostrando así que los polímeros fósiles de alto peso molecular y densidad pueden, bajo ciertas condiciones, degradarse tan eficazmente como otros de base biológica y biodegradables.

ABSTRACT

Plastic pollution is an environmental problem of global magnitude because most of the plastic waste generated today circulates, accumulates, and persists in the environment, becoming ubiquitous anthropogenic pollutants in terrestrial, aquatic, and even aerial environments. Plastic debris negatively impact human health, biodiversity, and the functionality of ecosystems, with the ocean being the destination and the main reservoir of these pollutants. The management of plastic waste has focused on physical and chemical methods, but microbial degradation constitutes a novel and sustainable alternative to deal with plastic pollution because the degradation pathways can lead to a complete or partial transformation and mineralization of synthetic polymers such as plastics. In this context, the study of microorganisms with the potential to degrade plastics becomes relevant. Marine fungi represent little explored biological resources, but of great interest to study their myco-degrading capacity because they possess bioactive molecules, metabolisms and adaptations that may differ from those observed in their terrestrial counterparts, so the prospecting of these resources opens a new avenue of study in the field of marine mycology. In the present study, we evaluated the ability of three fungal isolates (*Pleosporales* sp., *Aspergillus terreus* and *Eurotiales* sp.), from deep-sea hydrothermal vents in the southern Gulf of California, to deteriorate and degrade three synthetic polyethylene plastics with different resin densities: high-density polyethylene (HDPE), low-density polyethylene (LDPE) and linear low-density polyethylene (LLDPE), as well as a biodegradable corn starch plastic (BDFM). Initially, we established tolerance bioassays to evaluate the response of microfungi to the presence of plastic substrates. Since all of the isolates showed tolerance to polymers, they were subsequently used in degradation bioassays. Two experimental conditions were considered: 1) plastics that received an abiotic pretreatment of exposure to ultraviolet radiation and 2) plastics without an abiotic pretreatment. In both cases, the fungal biomass produced and plastic mass loss were quantified, and a PERMANOVA analysis was performed. Additionally, the surfaces of the plastics were analyzed by scanning electron microscopy (SEM). The results revealed that all isolates grew in the presence of biodegradable and non-biodegradable plastics, while deteriorating those substrates. Furthermore, the predominant factors in biodegradation according to PERMANOVA analysis correspond to the type of plastic and pretreatment. *Eurotiales* sp. produced the greatest amount of mycelia while causing the greatest loss of plastic mass, particularly on irradiated HDPE plastics. *Aspergillus*

terreus developed remarkable morphological complexity with mycelia and abundant conidiophores on three of the four plastic substrates (HDPE, BDFM and LDPE). Therefore, we propose both isolates as potential degraders of bio-based and fossil-based plastics.

Finally, regarding the plastics used as substrates, high-density polyethylene and bio-based plastics showed the highest degradation and biodeterioration rate, particularly irradiated HDPE plastics, thus demonstrating that high molecular weight and high-density fossil polymers can, under certain conditions, degrade as efficiently as other bio-based and biodegradable ones.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Sistemas hidrotermales

1.1.1 Características generales

Los sistemas hidrotermales, descubiertos a finales de la década de los 70's en la Dorsal de las Galápagos (Corliss y Ballard, 1977; Corliss et al., 1979), se distribuyen globalmente a lo largo de las dorsales meso-oceánicas, centros de dispersión trasarco o zonas situadas detrás de un arco volcánico en una zona de subducción (Moore et al., 1995) y zonas de fractura (Fig. 1) (Beaulieu et al., 2013). Desde su descubrimiento, el número estimado de sistemas hidrotermales se ha incrementado de 294 (antes del año 2000), a 721 (hasta el 2020) (Beaulieu y Szafranski, 2020). Algunas estimaciones predicen la existencia de alrededor de 900 sistemas con actividad hidrotermal no descritos y asociados a crestas extendidas (Baker y German, 2004; Beaulieu et al., 2013; 2015). Tarasov et al. (2005) propusieron su clasificación en dos grupos considerando diferencias en la composición, estructura e historias biogeográficas de sus comunidades bióticas: sistemas someros (<200 m de profundidad) y sistemas profundos (>200 m de profundidad). Estos últimos se caracterizan por tener una mayor proporción de taxones endémicos, así como por el predominio de formas simbiotróficas.

Una ventila hidrotermal se forma a partir de la interacción entre una fuente de calor, un cuerpo rocoso permeable y un fluido, donde se establece una celda convectiva que consta de un sistema de recarga, circulación y descarga (Alt, 1995; Soto y Estradas, 2013). La circulación ocurre cuando el agua de mar se filtra a través de grietas en la corteza oceánica fracturada o porosa a diferentes profundidades, calentándose y reaccionando con las rocas circundantes. Durante el proceso, la concentración de oxígeno disuelto disminuye en el agua de mar y ésta se enriquece con metales, minerales y compuestos reducidos, siendo el metano (CH₄), el sulfuro de hidrógeno (H₂S), el dióxido de carbono (CO₂), el hierro (Fe), el manganeso (Mn), el zinc (Zn) y el cobre (Cu) algunos de sus componentes químicos más importantes. Estos flujos hidrotermales, que pueden tener gradientes térmicos variables superando en algunos casos los 400° C, suben y emergen de los orificios del fondo marino, mezclándose rápidamente con el agua de mar fría. Como resultado de las interacciones químicas entre el agua de mar oxigenada, los componentes de los flujos hidrotermales reductores y el exterior oxidativo de la Tierra se establece una interfaz redox, así como la

disponibilidad de ciertos minerales que permiten el establecimiento de comunidades biológicas. Por lo tanto, la energía química reemplaza a la energía solar como combustible que sustenta la producción primaria por bacterias quimiosintéticas, ubicadas en la base de la red trófica (Johnson et al., 1988; Van Dover, 2000; Baker y German, 2004; Dick, 2019). En contacto con el agua marina, los minerales de los flujos hidrotermales precipitan por diferencias en la temperatura y forman estructuras en forma de chimeneas que pueden ser a) chimeneas negras de alta temperatura (275–400 °C) compuestas por sulfuros polimetálicos, principalmente cobre y zinc, o b) chimeneas blancas, con fluidos de menor temperatura (100–250 °C), alcalinas y ricas en sílice, bario y calcio (Rona et al., 1986; Tivey, 1998; Van Dover et al., 2018). En algunos sistemas hidrotermales también es posible encontrar sedimentos ricos en petróleo, así como la emanación natural de mezclas de hidrocarburos alifáticos y aromáticos que pueden producirse por la pirólisis o transformación química de la materia orgánica a alta presión y temperatura (Simoneit et al., 1992; Kawka y Simonet, 1994).

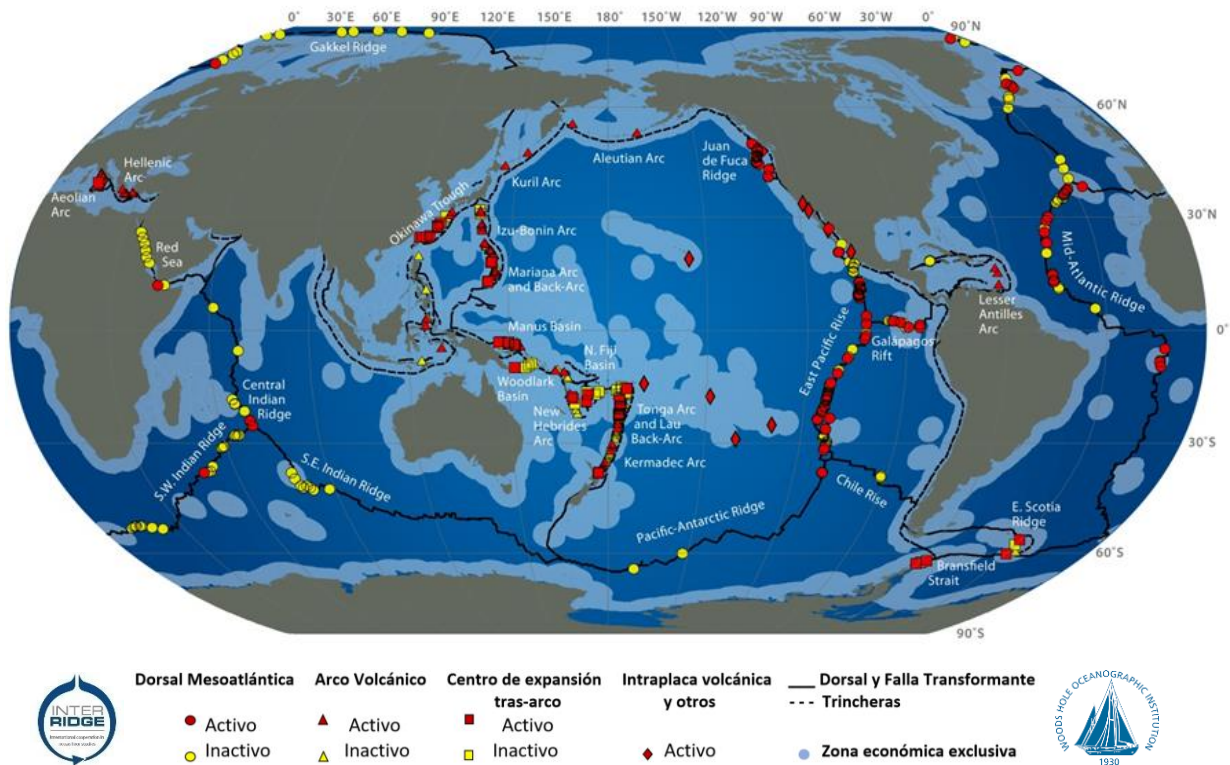


Figura 1. Distribución global de ventilas hidrotermales de la base de datos InterRidge Vents Versión 2.0, tomado de Beaulieu et al. (2010).

En los sistemas hidrotermales la energía química reemplaza a la energía solar como combustible que sustenta la producción quimioautotrófica microbiana (Van Dover, 2000), donde los compuestos reducidos de los fluidos hidrotermales son utilizados para fijar el dióxido de carbono del agua de mar (Ramirez-Llodra et al., 2007). Las redes tróficas de los sistemas hidrotermales comprenden ocho grupos bien definidos: tres de productores primarios (bacterias simbiontes, bacterias de vida libre incrustantes y bacterias de vida libre en suspensión) y cinco de consumidores (organismos portadores de simbiontes, bacterívoros, suspensívoros, carroñeros/detrítívoros y depredadores) (Tunnicliffe, 1991). Los procariotas quimiolitioautótrofos constituyen los principales productores primarios y se ubican en la base de la red alimenticia, comprendiendo a diversos grupos de mesófilos, termófilos e hipertermófilos, generalmente del Phylum Aquificae y las clases Deltaproteobacteria, Epsilonproteobacteria y Gammaproteobacteria (Dick, 2019; Espinosa-Asuar et al., 2020). No obstante, hoy en día también se consideran a los microeucariotas heterótrofos, particularmente a los hongos, que pueden proliferar e influir en los ciclos biogeoquímicos. Esta participación de los hongos en la circulación de nutrientes y energía a través de toda la red crea un bucle microbiano conocido como “mycoloop” (Kagami et al., 2014; Keeler et al., 2021; Posadas, 2023).

1.2 Hongos que habitan ambientes marinos

Los hongos ocupan el tercer lugar de riqueza entre los eucariotas, con cerca de 145,000 taxones descritos (Bánki et al., 2022), con un estimado de entre 1.5 y 5.1 millones de especies (Hawksworth, 2001; Blackwell, 2011; Hawksworth y Lücking 2017). La mayor parte de la diversidad fúngica ha sido estudiada en ambientes terrestres, pero el número de hongos asociados a ambientes acuáticos se ha incrementado de 530 especies en 321 géneros conocidos en el 2009 (Jones et al., 2009) a 1,857 especies en 769 géneros en el 2022 (Jones et al., 2019). Se estima que existen más de 10,000 especies de hongos marinos (Jones, 2011), pero sus patrones ecológicos, diversidad y distribución, particularmente en ambientes de mar profundo, permanecen poco explorados (Walker et al., 2017).

Los hongos marinos han sido definidos con base en criterios fisiológicos como organismos capaces de crecer y reproducirse en un amplio rango de salinidad (Johnson y Sparrow, 1961). Sin embargo, existen levaduras, hongos de agua dulce y hongos terrestres que pueden

presentar osmotolerancia y halotolerancia, creciendo en salinidades incluso superiores a las del agua de mar (Gladfelter et al., 2019; Pang et al., 2016). Por su parte, Kohlmeyer y Kohlmeyer (1979) proponen a los hongos marinos como un grupo pequeño y ecológicamente definido de micromicetes filamentosos, sus anamorfos y levaduras que pueden catalogarse como: marinos obligados, en cuyo caso crecen y esporulan exclusivamente en un hábitat marino; o marinos facultativos, es decir, especies de origen terrestre o de agua dulce con la capacidad de crecer o esporular en un ecosistema marino. Es importante considerar que el aislamiento de un hongo a partir de un propágulo incrustado en un sustrato marino no indica necesariamente que el hongo dependa del sustrato como su hábitat y, por lo tanto, no confirma una afiliación ecológica o fisiológica del hongo al medio marino ni su actividad ecológica en dicho ambiente (Pang et al., 2016). Así, en una propuesta más reciente, Pang et al. (2016) definen a un hongo marino como “cualquier hongo que es posible recuperar repetidamente de un hábitat marino porque: 1) puede crecer y/o esporular en ambientes marinos, 2) establece relaciones simbióticas con otros organismos marinos y 3) es posible demostrar que se adapta y evoluciona a nivel genético y/o que es metabólicamente activo en ambientes marinos”.

El registro de hongos en los entornos marinos explorados incluye sistemas hidrotermales (Van Dover & Lichtwardt, 1986; Van Dover et al., 2006; Gadanho y Sampaio, 2005; Bass et al., 2007; Burgaud et al., 2009, 2010, 2011, 2016; Le Calvez et al., 2009; Pan et al., 2017; Xu et al., 2018; Velez et al., 2022), zonas mínimas de oxígeno (Jebaraj et al., 2010), infiltraciones de metano (Nagahama et al., 2011), hielo marino (Rosa et al., 2019), fosas profundas (Takami et al., 1997), tapetes microbianos (Carreira et al., 2020), esqueletos de ballenas (Nagano et al., 2020), aguas superficiales, manglares, marismas y playas arenosas (Gladfelter et al., 2019; Velez et al., 2021). Con relación a los sustratos, los hongos marinos pueden encontrarse en una amplia gama como madera sumergida, granos de arena, fauna marina, algas, plancton (Overy et al., 2019), nieve marina (Bochdansky et al., 2017) e incluso plásticos (Kettner et al., 2017), representando estos últimos ecosistemas artificiales formalmente descritos como plastísfera (Zettler et al., 2013; Lacerda et al., 2020).

La microbiota marina constituye un grupo filogenéticamente diverso, diferenciado por geografía, sustrato y condiciones ambientales (Amend et al., 2019). Los principales grupos de hongos que se han aislado de ecosistemas marinos son Ascomycota, Basidiomycota,

Chytridiomycota, Blastocladiomycota y Mucoromycota (Jones et al., 2015), mismos que incluyen organismos parásitos, saprótrofos, endosimbiontes y mutualistas. La participación de estos grupos en la producción, reciclaje y circulación de nutrientes y energía a través de distintos niveles tróficos abre una nueva vía de configuración en los ecosistemas acuáticos como parte del bucle microbiano denominada “mycoloop” (Gladfelter et al., 2019).

1.2.1 Diversidad fúngica en mar profundo y sistemas hidrotermales

El mar profundo constituye un ambiente extremo dominado por condiciones de oscuridad permanente, oligotrofia, altas presiones hidrostáticas, ausencia de fotosíntesis, altas concentraciones de salinidad, bajo aporte de materia orgánica y temperaturas predominantemente bajas que pueden oscilar entre 1.8 y 4.0°C (Danovaro et al., 2017). A pesar de ser considerado un ambiente inhóspito, su exploración ha revelado una diversidad insospechada de hongos, tanto taxonómica como funcional, siendo predominante el filo Ascomycota y otros linajes aún no descritos. La mayoría de los aislados estudiados corresponden a organismos heterótrofos-aerobios-halotolerantes y sólo algunas especies de géneros como *Aspergillus* y *Penicillium* han sido descritas como ubicuas de estos entornos (Edgcomb et al., 2002; Sauvadet et al., 2010; Nagano y Nagahama, 2012; Danovaro et al., 2014; Vargas-Gastélum y Riquelme, 2020). Entre los hongos marinos obligados descritos para mar profundo destacan *Bathyascus vermisporus*, *Oceanitis scuticella*, *Allescheriella bathygena*, *Periconia abyssa*, *Alisea longicolla* y *Abyssomyces hydrozoicus* (Zvereva y Borzykh, 2022).

Los sistemas hidrotermales de mar profundo representan puntos críticos de diversidad microbiana. Los primeros estudios de microbiota hidrotermal se centraron en describir la diversidad cultivable de hongos filamentosos del subreino Dikarya y micromicetes levaduriformes, de los géneros *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Candida*, *Debaromyces* y *Cryptococcus* asociados a macrofauna; en dichos estudios se reporta una presencia compartida de grupos como *Agaricomycotina* y *Dothideomycetes* en sitios geográficamente distantes, así como evidencias de un antiguo linaje de *Chytridiomycota* (Van Dover et al., 2007; Burgaud et al., 2009; Le Calvez et al., 2009; Burgaud et al., 2010). En muestras de sedimento hidrotermal se ha observado que el gremio funcional predominante corresponde a hongos saprótrofos (Velez et al., 2022), con géneros bien representados como *Aspergillus*,

Aureobasidium, Candida, Cladosporium, Cystobasidium, Devriesia, Knufia, Nigrospora, Penicillium, Rhodotorula y Sarocladium (Wei et al. 2018; Xu et al., 2018).

1.3 Plásticos

1.3.1 Características generales

El término polímero deriva del griego *poly* (muchos) y *meros* (partes) y hace referencia a una macromolécula formada por la unión química de un gran número unidades repetitivas llamadas monómeros. Los polímeros se denominan “orgánicos” si contienen carbono en la columna vertebral principal de la cadena molecular, o bien “inorgánicos” si no lo contienen. Los polímeros orgánicos se dividen a su vez en naturales (p. ej., almidón, celulosa, pectina, ADN, ARN, entre otros) o sintéticos, cuyo ejemplo más notable corresponde a los llamados plásticos (Chanda y Roy, 2008; Gad, 2014). Por su parte, la palabra plástico, cuya raíz griega *plastikos* significa “moldeable”, describe un conjunto químicamente diverso de polímeros de origen sintético o semisintético (Galloway et al., 2017). Estos materiales poseen una naturaleza compleja debido a que sus propiedades pueden modificarse antes, durante y después de su síntesis mediante procesos químicos o físicos que incorporan aditivos, creando variaciones en su composición química, estado sólido, solubilidad, cristalinidad, tamaño, forma, color, porosidad, permeabilidad y resistencia (Hartmann et al., 2019). El resultado es una serie de mezclas químicas complejas, con materiales fáciles de fabricar, livianos, flexibles, duraderos y con bajos costos de producción. Los aditivos más utilizados por la industria son los plastificantes, aditivos de relleno, colorantes, agentes biocidas, estabilizadores térmicos, antioxidantes, estabilizadores UV y retardantes de llama. Todos estos aditivos prolongan la vida útil de los plásticos y promueven un retraso en su degradación (Bittner et al., 2014; Carmen, 2020). Los principales bloques de construcción de los plásticos son productos petroquímicos como el carbón, el gas natural y el petróleo, con cerca del 8% de la extracción global de crudos destinada a su fabricación (Thompson et al., 2009).

De acuerdo con su tamaño, los plásticos pueden clasificarse como macrolásticos (> 1 cm), mesoplásticos (1 a <10 mm), microlásticos (MP) primarios y secundarios (1 a < 1000 µm) y nanoplásticos (1 a < 100 nm) (Alimi et al., 2018; Hartmann et al., 2019). Los MP primarios son subproductos de las emisiones de partículas liberadas por la producción industrial y

suelen fabricarse originalmente en un tamaño pequeño (Van Cauwenberghe et al., 2015), mientras que los MP secundarios son material particulado que se ha fragmentado a partir de artículos de plástico más grandes (Andrady, 2011; Alimi et al., 2018).

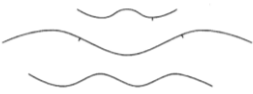

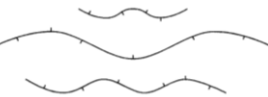
El consenso general también reconoce a los plásticos como polímeros termoplásticos (p. ej., polietileno, poliestireno, polipropileno) y polímeros termoestables (p. ej., poliuretanos). Los primeros existen como sólidos a temperatura ambiente y son reciclables debido a que pueden ablandarse para volverse flexibles y reprocesarse más de una vez a altas temperaturas. Los segundos no pueden reciclarse debido a la presencia de reticulaciones y enlaces cruzados altamente estables entre sus moléculas, que no les permiten reprocesarse ni fundirse incluso a altas temperaturas (Gad, 2014; Sánchez, 2020).

1.3.2 Polietileno (PE)

En su forma más simple, una molécula de polietileno (PE) consta de un esqueleto lineal de átomos de carbono unidos covalentemente con átomos de hidrógeno y grupos metilo en sus extremos (Peacock, 2000). La categoría “polietileno” agrupa a un conjunto diverso de resinas sintéticas y termoplásticas, cuyo principal constituyente petroquímico corresponde al etileno orgánico. Las resinas de PE químicamente puras consisten en alcanos con la fórmula $C_{2n}H_{4n+2}$, donde n es el grado de polimerización, es decir, el número de monómeros de etileno polimerizados para formar la cadena (Peacock, 2000). Las principales categorías de resinas de polietileno corresponden al polietileno de alta densidad (HDPE), polietileno de baja densidad (LDPE) y polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) (Tabla 1). Estas resinas pueden diferenciarse de acuerdo con su densidad, grado de ramificación y disponibilidad de grupos funcionales en la superficie. Los polietilenos son altamente recalcitrantes y resistentes a diferentes tipos de degradación biótica y abiótica debido a su insolubilidad en agua, superficie inerte e hidrófoba, una estructura molecular altamente estable, la ausencia de grupos funcionales y un alto peso molecular (Nowlin, 2014; Restrepo-Flórez et al., 2014; Gewer et al., 2015; Spalding y Chatterjee, 2017; Ghatge et al., 2020). Los principales contribuyentes a los desechos plásticos son el polietileno de baja densidad, con un 23% y el polietileno de alta densidad, con un 17.3 % (Puri et al., 2013; Patel, 2017). Junto con el polipropileno (PP), el PE representa alrededor del 92% de los plásticos sintéticos producidos a nivel mundial (Lee et al., 1991). En el 2010, su demanda fue de aproximadamente 70

millones de toneladas métricas, con un aumento a 84 millones en el 2014, posicionándose como el plástico con el mercado más grande en el mundo (Dobbin, 2017; Nerland et al., 2014; Nowlin, 2014).

Tabla 1. Características generales de las principales categorías de resinas de polietileno

| | Polietileno de alta densidad (HDPE) | Polietileno de baja densidad (LDPE) | Polietileno de lineal de baja densidad (LLDPE) |
|---------------------------------------|---|--|---|
| Estructura molecular |  |  |  |
| Clasificación macromolecular | Homopolímero | Homopolímero | Copolímero |
| Punto de fusión (°C) | 125-134 | 106-120 | 120-125 |
| Densidad (g/cm³) | 0.940 – 0.967 | 0.915 – 0.931 | 0.915 – 0.940 |
| % Cristalinidad | 62 – 80 | 45 - 56 | 45 - 62 |
| Grupos R en ramificaciones | Moléculas no ramificadas | Etilo y butilo | Etilo, butilo, hexilo |
| Compuestos orgánicos volátiles | Hidrocarburos alifáticos insaturados, aldehídos alifáticos | Hidrocarburos alifáticos insaturados, aldehídos alifáticos | NA |

1.3.3 Plásticos biodegradables y no biodegradables

Las terminologías bioplástico, plástico de base biológica (BBP) o plástico biodegradable se han empleado de manera indistinta en la literatura a pesar de existir diferencias fundamentales entre cada una (Goel et al., 2021). Por ejemplo, no todos los materiales que provienen de materias primas renovables o de base biológica son biodegradables. Debido a lo anterior, conviene precisar estas terminologías.

Los plásticos de base biológica representan una categoría que agrupa a plásticos que pueden fabricarse total o parcialmente con polímeros derivados de fuentes vegetales como almidón, celulosa o lignina. Por su parte, la Organización Europea de Bioplásticos, define a un material como bioplástico si es biodegradable, de base biológica o presenta ambas propiedades (European Bioplastics, s.f.). Se trata de termoplásticos que pueden sintetizarse a partir de recursos renovables y fósiles o combinaciones de ambos. Aunque no todos los bioplásticos son biodegradables, la mayoría puede reciclarse y su ciclo de vida se asocia a una menor emisión de gases de efecto invernadero (Reddy et al., 2013).

Todos los plásticos, independientemente de su origen fósil o biológico, son diseñados de manera tal que pueden agruparse como sigue:

No biodegradables.

Plásticos que incluyen polímeros de origen fósil y de base biológica o combinaciones de ambos. Poseen altos pesos moleculares debido a la extensa repetición de pequeñas unidades monoméricas (Ghosh et al., 2013). Se consideran materiales estables y no entran fácilmente en los ciclos de degradación de la biósfera (Vijaya y Reddy, 2008). La mayoría de los plásticos convencionales como el polietileno (PE), poliestireno (PS), polipropileno (PP), cloruro de polivinilo (PVC) o el tereftalato de polietileno (PET) se obtienen a partir de derivados de hidrocarburos y petróleo y son considerados como no biodegradables debido a que presentan algún grado de resistencia a la degradación, o su velocidad es demasiado lenta para desintegrarse por completo.

Biodegradables.

Los plásticos biodegradables (BD) son materiales de origen fósil o de base biológica que están diseñados para degradarse en un entorno particular y en un periodo de tiempo definido por acción biológica, dando como resultado productos finales como agua (H₂O), biomasa y gases como el dióxido de carbono (CO₂) o el metano (CH₄). Debido a que están configurados para degradarse rápidamente no se pueden reciclar y su biodegradabilidad dependerá de la estructura química del polímero, las condiciones ambientales y los organismos involucrados en la biodegradación, no de la fuente de la cual provengan (Massardier-Nageotte et al., 2006).

1.4 Contaminación plástica e impactos ambientales

La industria de los plásticos comenzó su desarrollo a gran escala en el siglo XX y desde entonces, la producción no ha cesado de crecer. En 1950, la producción anual promedio de plásticos era de 2 millones de toneladas métricas (Mt^2) mientras que para 2018 esta cifra aumentó a 359 Mt^2 . En menos de un año esta cifra volvería a aumentar con un registro récord de 368 Mt^2 en el 2019 (Geyer et al., 2017; Plastics Europe, 2020). La tasa de crecimiento anual promedio entre 1950 y 2017 fue del 8.3%, acumulando un estimado de 9.200 millones de toneladas de plásticos producidos en el mismo periodo (Geyer, 2020). Este incremento en la producción y uso de plásticos sintéticos agudizó el problema de la contaminación en entornos terrestres, aéreos y acuáticos debido a la generación de residuos plásticos, formalmente descritos como todos aquellos objetos que poseen como componentes principales polímeros sintéticos o naturales fuertemente modificados, que cuando están presentes en ambientes naturales, sin cumplir una función prevista, son sólidos e insolubles a 20°C (Hartmann et al., 2019). Estos residuos son persistentes, acumulables, móviles e incluso ubicuos en el ambiente, incluyendo sitios urbanos, rurales y remotos (Hartmann et al., 2019; Thompson et al., 2009). La cifra más actual estima la generación de aproximadamente 7000 Mt^2 de desechos plásticos entre 1950 y 2017 (Geyer, 2020), la mayoría de los cuáles han mostrado una tendencia a adoptar el océano como destino final. El flujo de ingreso anual en océanos oscila entre 4.8 y 12.7 Mt^2 , cifras que podrían triplicarse hasta 29 Mt^2 para el 2040 (Derraik, 2002; Jambeck et al., 2015; The Pew Charitable Trusts [TPCT], 2020). Sin acciones globales coordinadas podría haber más plástico que peces en el océano, por peso, para 2050 (Jennings et al., 2008). Paralelamente, se ha estimado que cerca del 90% de todos los plásticos que ingresan al océano provienen de 10 ríos, ubicados todos en Asia y África (Schmidt et al., 2017) y, desde 1950 se encuentran almacenados por debajo de la capa superficial del océano (Koelmans et al., 2017). Un estudio reciente indicó que las corrientes termohalinas cercanas al lecho marino impulsan la deposición de plástico en puntos críticos para la biodiversidad en el océano profundo (Kane et al., 2020), con cerca de 7.8 Mt^2 de plásticos en forma de carbono plástico (C_{plas}) atrapados en el lecho marino (Smeaton, 2021). Por lo tanto, el océano profundo podría constituir el sumidero final de muchos de los desechos inicialmente flotantes. El hundimiento de estas partículas plásticas podría deberse a un aumento en su densidad, ya sea por la acumulación de sedimentos, la

formación de agregados plásticos o por la incrustación de una amplia variedad de formas de vida macroscópica y microscópica (Barnes et al., 2009). Estas últimas, son capaces de establecer en los desechos plásticos hábitats artificiales denominados plastísfera, contribuyendo al transporte de especies exóticas y potencialmente patógenas conforme los plásticos se trasladan a nuevos sitios geográficos (Zettler et al., 2013; Jacquin et al., 2019; Amaral-Zettler et al., 2020).

El problema de los plásticos es tan grande que hoy en día se les considera como un indicador clave del Antropoceno (Zalasiewicz et al., 2016) y en 2014, el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) identificó la contaminación plástica en los océanos como uno de los 10 principales problemas ambientales globales emergentes (UNEP, 2014). En un contexto de cambio climático, es posible que las emisiones relacionadas con el ciclo de vida de los plásticos aumenten de 1.0 gigatoneladas de dióxido de carbono equivalente (GtCO₂e) según lo reportado en el 2016 a 2.1 GtCO₂e para el 2040, lo que representa 19% en comparación al 3% actual de la cuota anual de emisiones permitidas si apuntamos a limitar el calentamiento global en 1.5°C (Rogelj et al., 2018; TPCT, 2020).

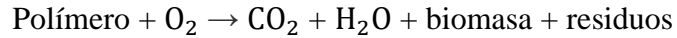
La contaminación por desechos plásticos produce impactos negativos en la vida silvestre, los ecosistemas y la salud humana (Gregory, 2009). De todo el plástico producido hasta ahora, sólo el 9% se ha reciclado, el 12% se ha incinerado, y el 79% se acumula en vertederos o en el ambiente (Geyer et al., 2017). Los métodos de disposición, tratamiento y gestión de residuos incluyen incineración, vertederos, reciclaje, tecnologías de conversión de energía o combustibles y, más recientemente, tecnologías de biodegradación (Hopewell et al., 2009; Jambeck et al., 2015; Hundertmaek et al., 2018; TPCT, 2020). A pesar de estos esfuerzos no existe una estrategia global eficiente y la mayoría de los países aún carece de un marco regulatorio, legislativo y ético para enfrentar el problema. Más aún, la mayoría de los plásticos suelen exportarse del primer mundo a los países en vías de desarrollo para su eliminación legal o ilegal, por lo que la responsabilidad del manejo y gestión de los residuos llega a recaer en los grupos que menos han contribuido al problema, creando un entorno de injusticia ambiental (Conlon, 2020).

1.5 Degradación de plásticos

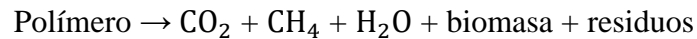
La degradación de los plásticos está influenciada por la estructura molecular del polímero y sus propiedades físicas y químicas (Shah et al., 2008). Hoy en día se reconocen dos principales rutas de degradación que pueden actuar de manera sinérgica en la naturaleza: por un lado, la ruta abiótica, impulsada por factores ambientales como la temperatura, pH, humedad, presencia o ausencia de oxígeno, luz solar (radiación UV) y salinidad. La mayoría de estos factores pueden controlarse en condiciones experimentales y suelen emplearse como pretratamientos que anteceden la degradación biótica. Por ejemplo, el tratamiento térmico, el tratamiento con luz UV o la combinación de ambos, puede promover una reducción en el tamaño de la cadena del polímero, formando grupos carboxilo, carbonilo e hidroxilo en la superficie del polímero, al tiempo que modifican la cristalinidad y la morfología superficial del polímero, facilitando su degradación (Gu, 2003; Massardier-Nageotte et al., 2006). La segunda ruta es la degradación biótica o biodegradación, un proceso mediado por la actividad biológica, es decir, por la acción directa o indirecta de microorganismos que transforman, descomponen y mineralizan materiales, empleándolos como una fuente de energía y nutrientes. Incluye procesos de biodeterioro, biofragmentación, despolimerización, asimilación y mineralización (Harrison et al., 2018). El biodeterioro hace referencia a la modificación y debilitamiento de las propiedades mecánicas, químicas y físicas del material plástico con cambios en su microestructura debido al crecimiento de microorganismos sobre su superficie o dentro de la matriz polimérica. La biofragmentación se relaciona con la acción de enzimas extracelulares o intracelulares liberadas por actividad biológica y que contribuyen a una reducción en el peso molecular de los polímeros. La despolimerización consiste en la conversión de los bloques de polímeros en oligómeros y monómeros, mismos que durante la asimilación son aprovechados por las células microbianas como una fuente de carbono y energía, aumentando así su biomasa. Finalmente, la mineralización, es el último paso de la biodegradación, que consiste en la excreción y conversión de moléculas producto del metabolismo aerobio o anaerobio de los microorganismos y de las reacciones que tienen lugar en etapas anteriores, produciendo biomasa, agua y compuestos como el dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) y agua (H_2O). En la naturaleza, los procesos de degradación biótica y abiótica pueden actuar de manera sinérgica sobre los sustratos plásticos dispuestos en el ambiente (Lucas et al., 2008; Dussud y Ghiglione 2014; Restrepo-Flórez et al., 2014; Harrison et al., 2018).

Dependiendo del ambiente, el proceso de biodegradación se puede clasificar en:

- a) Biodegradación aeróbica: descomposición microbiana de contaminantes orgánicos en presencia de oxígeno.



- b) Biodegradación anaeróbica: descomposición microbiana en ausencia de oxígeno, en la que se produce metano en lugar de dióxido de carbono.



De acuerdo con Restrepo-Flórez et al. (2014), existen siete grandes parámetros a considerar en los estudios de biodegradación para evaluar cambios en las propiedades de los polímeros: 1) modificaciones químicas de los grupos funcionales de los polímeros, 2) cambios en la hidrofobicidad e hidrofiliidad, 3) cristalinidad, 4) propiedades mecánicas, 5) distribución del peso molecular, 6) modificaciones estructurales en la topografía superficial y 7) cuantificación de la masa de los polímeros. En este estudio nos centramos en los dos últimos parámetros. Las principales técnicas utilizadas para dar seguimiento a estos cambios son la espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR), microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectrometría fotoelectrónica de rayos X (XPS) (Carmen, 2020). Se ha criticado que la pérdida de masa y los cambios en la topografía probablemente se deriven de la degradación de los aditivos químicos, por lo que se sugiere que muchos de estos estudios sean acompañados de análisis físicos, químicos, bioquímicos y moleculares más avanzados como la espectroscopia ATR-FTIR, cromatografía de permeación en gel y microscopía de fuerza atómica (Ghatge et al., 2020).

Para mejorar la eficiencia de la biodegradación, algunas investigaciones suelen integrar un enfoque de pretratamiento abiótico para favorecer el desgaste prematuro de los plásticos mediante procesos químicos, térmicos o de radiación ultravioleta. Este último tipo de pretratamiento puede generar radicales libres de oxígeno, mismos que participan en la formación de moléculas de cadena corta, un blanco importante en el ataque por exoenzimas microbianas. Aunado a ello, la radiación UV también puede reducir la hidrofobicidad plástica, favoreciendo la adherencia y colonización microbiana (Taghavi et al., 2021).

1.5.1 Los hongos y su potencial micodegradador de plásticos

Los plásticos representan sustratos artificiales novedosos, inertes, hidrofóbicos y duraderos que son física y químicamente distintos a otros sustratos naturales presentes en el ambiente. A pesar de su naturaleza compleja y resistencia al ataque microbiano, los materiales plásticos son susceptibles de ser colonizados y degradados por diferentes grupos de microorganismos incluyendo bacterias y hongos (Masó et al., 2003; Shah et al., 2008; Zettler et al., 2013; Amaral-Zettler et al., 2020).

Los hongos representan un grupo de especial interés para la degradación de plásticos ya que, entre otras características: exhiben un amplio potencial metabólico, degradan una amplia gama de sustratos orgánicos e inorgánicos (p. ej., especies lignolíticas o celulolíticas), realizan procesos de nutrición por absorción, secretan mucílago (una sustancia que favorece la adhesión de esporas o micelio a diferentes sustratos), producen estructuras invasivas como los apresorios (que además de adherirse fuertemente a superficies, aseguran la penetración mediante fuerza mecánica o acción enzimática), poseen una capacidad destacable para formar complejas biopelículas fúngicas que impulsan la adherencia y secretan proteínas como las hidrofobinas, involucradas en la unión a superficies hidrofóbicas (Jones, 1994; Hadar y Sivan, 2004; Méndez et al., 2007; Vesentini et al., 2007; Carmen, 2020; Lacerda et al., 2020; Bhagwat et al., 2021; Gkoutselis et al., 2021).

A diferencia de las bacterias, los hongos filamentosos forman hifas que crecen apicalmente, se ramifican y entrelazan tridimensionalmente, creando una red filamentosa multicelular. Esta estructura es muy eficaz ya que, en respuesta a la presencia de un determinado sustrato, permite la circulación de recursos a través de todo el micelio por medio de la producción de enzimas hidrolíticas a través de las paredes celulares (Isaac, 1992). Además, el micelio constituye una estructura exitosa en la exploración espacial del entorno debido a la capacidad de distribución y penetración de las hifas en diferentes matrices, esta última favorecida por la presión de turgencia interna y las paredes celulares rígidas (Daccò et al., 2020). Cuando las hifas encuentran un sustrato, colonizan su superficie y descomponen el material a través de la difusión de enzimas intra y extracelulares, solubilizando los componentes del sustrato mediante mecanismos de saprotrofia. Con ello, es posible transformar materiales rígidos y poco biodisponibles como los plásticos, convirtiéndolos de polímeros a monómeros (Fig. 2; Lindahl y Olsson, 2004; Raghukumar, 2004; Jobard et al., 2010; Appels et al., 2018; Sáenz

et al., 2019). De acuerdo con todo lo anterior, los hongos representan buenos candidatos para estudiar procesos de adherencia, colonización, biodeterioro y biodegradación plástica.

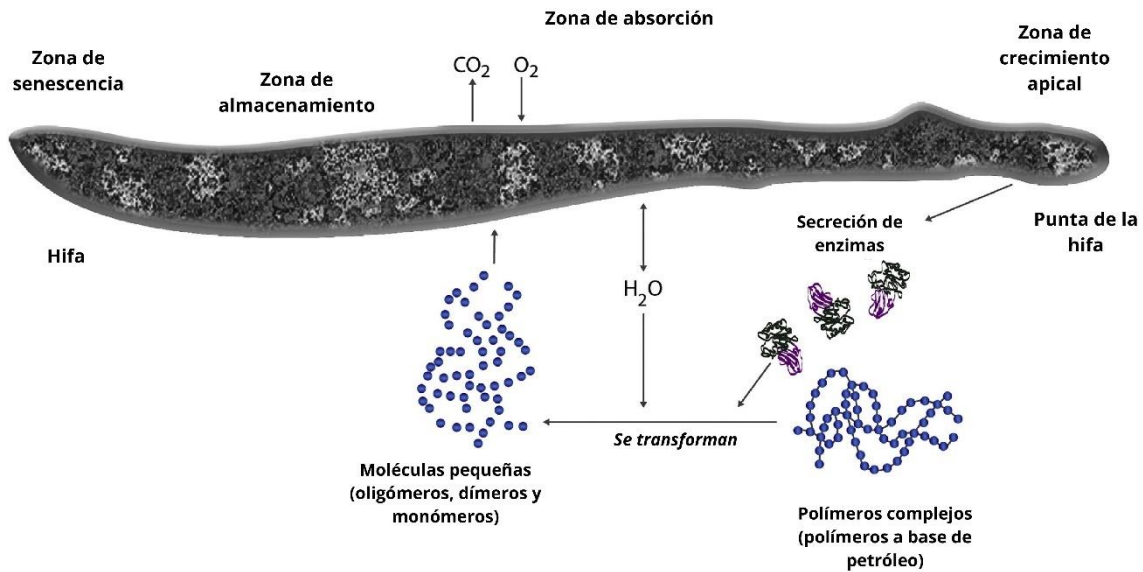


Figura 2. Esquema general de biodegradación de polímeros complejos por una hifa segmentada en 4 regiones: zona de crecimiento apical, zona de absorción, zona de almacenamiento y zona de senescencia. Las hifas liberan enzimas digestivas por exocitosis que descomponen los polímeros complejos en compuestos orgánicos más pequeños, liberando CO_2 y H_2O , momento en el que ocurre la mineralización en condiciones aeróbicas (tomado y editado de Carmen, 2020).

2. ANTECEDENTES

2.1 Exploración de sistemas hidrotermales en el Golfo de California

México alberga diversos sistemas hidrotermales; el primero en ser descubierto y estudiado se encuentra en el Océano Pacífico Oriental, frente a las costas de Manzanillo, y es denominado 21°N (Lara-Lara et al., 2008). La primer ventila hidrotermal de alta temperatura descubierta en aguas nacionales se localizó en la Dorsal Rivera a 2,500 m de profundidad frente a la costa de Nayarit en 1979. A tal hallazgo seguiría el de la Cuenca de Guaymas en 1982 (Pantoja y Gómez, 2004). Esta cuenca está situada a lo largo de la cordillera meso-oceánica del Pacífico Oriental y alberga al menos 7 sitios con actividad hidrotermal que se han descubierto en profundidades promedio de 2,500 m (Soto y Estradas, 2013). Los recientes esfuerzos de exploración en el Golfo de California han revelado una mayor cantidad de sitios con hidrotermalismo, por medio del mapeo del alta resolución del fondo marino y el registro

de anomalías térmicas. En el año 2012 se descubrieron sistemas hidrotermales activos en aguas profundas al sur del Golfo de California, en la Cuenca de Pescadero (CP), en la Dorsal de Alarcón (DA), y en el 2015 en la Falla Transformante de Pescadero (FTP) (Goffredi et al., 2017; Paduan et al., 2018). Goffredi et al. (2017) fueron los primeros en describir estas zonas, así como su composición faunística.

Aunque en sus inicios la exploración del mar profundo en el Pacífico Mexicano estuvo guiada por la búsqueda de recursos geotérmicos, iniciativas como el proyecto TALUD sentaron un antecedente importante en el estudio de las comunidades biológicas epibentónicas, endobentónicas y pelágicas de aguas profundas cercanas a ventilas hidrotermales e infiltraciones frías (Zamorano et al., 2014). Desde entonces, las campañas oceanográficas en el Golfo de California han contado con el apoyo de los vehículos de operación remota “Jason” y “Doc Ricketts”, los sumergibles “MIR-1”, “MIR-2”, “Nautile” y “Alvin”, así como de los buques oceanográficos “ATLANTIS”, “KELDISH” y “Western Flyer”. Estos equipos de exploración han permitido caracterizar la fauna hidrotermal a partir de la composición de especies, densidad, distribución y hábitats, y han impulsado el descubrimiento y la descripción de nuevas especies (Mejía-Mercado et al., 2014).

Los estudios de Salcedo et al. (2019, 2021) fueron los primeros en analizar la transferencia de energía y la estructura trófica de la macrofauna bentónica en CP, FTP y DA mediante el uso de isótopos estables de carbono ($\delta^{13}\text{C}$), nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) y azufre ($\delta^{34}\text{S}$), revelando la asimilación de carbono derivado de los ciclos Calvin-Benson-Bassham (CBB) y el ciclo del ácido tricarbóxico inverso (rTCA) por parte de la macrofauna.

Posteriormente, la secuenciación Illumina de alto rendimiento del gen 16S rRNA a partir de muestras recuperadas de sedimentos superficiales de la CP, FTP y DA ha revelado que los *phyla* más abundantes de bacterias son Proteobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi y Bacteroidete, seguidos de Acidobacteria, Artribacteria y Patesibacteria, grupos que han sido reportados en otros sistemas hidrotermales como la Cuenca de Guaymas. También se registra la presencia de taxones bacterianos oxidantes del azufre/sulfuro y reductores del azufre/sulfato (Espinosa-Asuar et al., 2020). Entre estos grupos bacterianos y los hongos reportados en estos sistemas, las principales interacciones parecen ser de antagonismo y competencia (Hernández, 2019).

2.2 Diversidad de hongos marinos en los sistemas hidrotermales del sur del Golfo de California

El estudio reciente de Velez et al. (2022) constituye el más completo sobre micobiota marina de los sistemas hidrotermales distribuidos al sur del GoC. Mediante el análisis de la región ITS1 acoplado a la secuenciación de alto rendimiento Illumina, se reveló que los sistemas CP, FTP y DA, poseen una diversidad taxonómica y funcional destacable de hongos microscópicos cultivables, así como filotipos no cultivados ampliamente distribuidos. En este mismo estudio se incluyó un análisis de estrategias tróficas, revelando la existencia de gremios funcionales característicos para cada sistema, con un predominio de saprótrofos indefinidos en la CP y endófitos en la DA. Hasta ahora, los aislados obtenidos de muestras de sedimento en estos tres sitios indican que la diversidad fúngica se concentra en los *phyla* Basidiomycota y Ascomycota, particularmente en las clases *Eurotiomycetes*, *Dothideomycetes* y *Sordariomycetes* (Hernández, 2019; Vélez et al., 2022).

Entre los aislados fúngicos recuperados de la CP, algunos fueron identificados como *Aspergillaceae* sp. 2, *Aspergillus* sp. 2, *Aspergillus* sp. 3, *Aspergillus* sp. 4 y *Aspergillus* sp. 5. A esta diversidad se suma la identificación de *Aspergillus terreus* y *Pleosporales* sp. Los *Malasseziales* también se presentan abundantemente en sedimentos de la CP. La micodiversidad en la FTP incluye una comunidad dominada por *Dothideomycetes* y *Malasseziales*, siendo abundantes *Ramularia* sp., *Malassezia* sp. y *Fungi* sp. 14 (Velez et al., 2022). También se identificaron *Penicillium miczynskii*, *Penicillium* sp. 1 y *Penicillium* sp. 3, así como *Aspergillaceae* sp. 4 y *Eurotiomycetidae* sp. y *Eurotiales* sp. (Hernández, 2019).

3. JUSTIFICACIÓN

La producción y uso de plásticos ha aumentado drásticamente en los últimos años debido a su durabilidad, practicidad y bajo costo. No obstante, su acumulación y permanencia en el ambiente los ha convertido en una fuente importante de contaminación y un peligro potencial para los ecosistemas. Aunado a ello, la reciente pandemia de COVID-19 ha generado una mayor demanda de plásticos, particularmente los de un solo uso, debido a su papel fundamental en el sector salud. Con ello, se ha intensificado la generación de residuos plásticos. La gran mayoría de los desechos presentes en el ambiente provienen de fuentes

terrestres y suelen adoptar el océano como destino final. Enfrentar el problema de contaminación plástica ha requerido esfuerzos de gestión, tratamiento y eliminación de residuos por medio de métodos físicos y/o químicos, los cuales han resultado ser prácticas insuficientes, costosas y generadoras de contaminantes secundarios. Debido a ello, resulta esencial considerar métodos alternativos como la biodegradación, abordada en este trabajo.

Por otra parte, los hongos microscópicos son componentes clave de la biosfera debido a su participación en los ciclos biogeoquímicos, la circulación de nutrientes y la degradación de materia orgánica, incluyendo polímeros complejos como la celulosa o lignina. En entornos marinos extremos como las ventilas hidrotermales, las condiciones ambientales han sido impulsoras importantes en la aparición de metabolismos fúngicos novedosos y adaptaciones que no se observan en la micobiota terrestre. Es por ello por lo que la bioprospección, como la realizada en esta investigación, y también el estudio del potencial degradador de la micobiota proveniente de estos ambientes constituye un campo novedoso a través del cual es posible identificar especies fúngicas con capacidades destacables y potencialmente útiles en la biodegradación de materiales plásticos.

Por lo anterior, este estudio representa una investigación innovadora en el campo de la micología marina y la micodegradación de polímeros. Su importancia radica en la evaluación del potencial de micromicetes provenientes de sistemas hidrotermales de mar profundo en el Golfo de California para degradar plásticos de base fósil y base biológica. Al mismo tiempo, constituye un antecedente importante en la comprensión de la micodegradación como una estrategia encaminada a reducir la contaminación plástica.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar la capacidad de tres aislados fúngicos (*Aspergillus terreus*, *Pleosporales* sp. y *Aspergillaceae* sp. 2), obtenidos de sedimentos superficiales de ventilas hidrotermales en la Cuenca de Pescadero y la Falla Transformante de Pescadero) para degradar y deteriorar polímeros sintéticos y biodegradables.

4.2 Objetivos Particulares

- Confirmar la viabilidad de tres aislados fúngicos provenientes de ventilas hidrotermales de la Cuenca de Pescadero y la Falla Transformante de Pescadero, resguardados en la colección de cultivos del laboratorio C-121 del Instituto de Biología, UNAM.
- Analizar a través de bioensayos *in vitro* la sensibilidad y tolerancia de los micromicetes seleccionados a la presencia de plásticos sintéticos elaborados con polietileno para tres grandes categorías de resinas (LDPE, HDPE y LLDPE), así como para un plástico biodegradable elaborado con fécula de maíz.
- Establecer los posibles efectos de biodeterioro sobre los sustratos plásticos mediante microscopía electrónica de barrido.
- Determinar el grado de biodegradación evaluando cambios en el peso seco de los sustratos plásticos y la biomasa fúngica.
- Examinar la capacidad de los micromicetes para usar dichos polímeros como única fuente de carbono.
- Prospeccionar las posibles condiciones ideales para la degradación de plásticos en términos del pretratamiento de los sustratos con luz UV.

5. HIPÓTESIS

Los hongos aislados de los sedimentos superficiales de los sistemas hidrotermales de la Cuenca de Pescadero y la Falla Transformante de Pescadero son agentes potenciales para la degradación y deterioro de polímeros sintéticos derivados del petróleo y polímeros biodegradables, donde el pretratamiento con luz UV representa un catalizador para el ataque microbiano.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Localidades de origen de los aislados

El material biológico seleccionado para el presente trabajo fue obtenido a partir de sedimentos superficiales de sistemas hidrotermales del Golfo de California muestreados por la Dra. Diana L. Salcedo durante la campaña oceanográfica Vents and Seeps (2015), lo cual fue posible gracias a un convenio de colaboración establecido con MBARI (Monterey Bay

Aquarium Research Institute). Los aislados obtenidos forman parte de la colección de cultivos del Laboratorio de Ecología Molecular de Micromicetes en Ecosistemas Amenazados, C-121 del Instituto de Biología, UNAM. La descripción de las localidades de origen de los aislados se detalla a continuación.

6.1.1 Golfo de California

El Golfo de California (GoC) es una cuenca oceánica de evaporación semicerrada ubicada en el noreste del Océano Pacífico, entre la Península de Baja California y los estados costeros de Sonora y Sinaloa. Posee una longitud de 1,100 km y un ancho variable de 150 km en promedio (Roden, 1964; Álvarez-Borrego, 1983; Lluch-Cota et al., 2007) y tiene un sistema de cuencas tectónicas escalonadas y separadas entre sí por cordilleras transversales (Lonsdale, 1989). Las cuencas activas en la región norte son someras (~ 200 m), se ubican dentro de una amplia zona de deformación entre las fallas transformantes Cerro Prieto y Ballenas, poseen límites difusos y su basamento está conformado, principalmente, por corteza continental. Destacan entre ellas las cuencas Wagner, Consag, Aldair-Tepoca, Delfín, Tiburón y Yaqui. Por su parte, las cuencas de la región sur y centro suelen superar los 2,000 m de profundidad, están delimitadas por fallas transformantes y poseen pilas sedimentarias, en algunos casos mayores a 1 km, con un basamento formado por corteza transicional y oceánica, formando verdaderos centros de expansión. Las cuencas de Guaymas, Carmen, Fallarón, Pescadero, Cerralvo, Alarcón y Alfonso, son ejemplos de cuencas profundas en estas zonas (Lonsdale, 1989; Henyey y Bischoff, 1973; Aragón-Arreola et al., 2005). Este escenario tectónico complejo indica que el Golfo de California alberga un número indeterminado de centros de expansión cortos, con sistemas hidrotermales en diferentes etapas de desarrollo (Henyey y Bischoff, 1973). Entre los sitios que poseen actividad hidrotermal destacan la Cuenca de Guaymas, la Dorsal de Alarcón, la Falla Transformante de Pescadero y la Cuenca de Pescadero.

6.1.2 Cuenca de Pescadero (CP)

La Cuenca de Pescadero se localiza a 150 km al este de La Paz y representa un conjunto de tres fosas tectónicas entre los 24° de latitud Norte y los 109° de longitud Oeste (Fig. 3). Posee una extensión de 22.9 km², sedimentos de origen terrígeno y biogénico calcáreo de más de 50 m de espesor y una profundidad de ~3,800 m, la máxima registrada para una cuenca en el

Océano Pacífico Oriental (Goffredi et al., 2017). El sur de esta cuenca alberga sistemas hidrotermales en los que se encuentran grandes montículos con flujo hidrotermal a 3.670 km de profundidad. Estas estructuras son chimeneas blancas, poseen sulfuros polimetálicos y paredes externas ricas en anhidrita e internas ricas en calcita. Los fluidos hidrotermales son similares a los de la Cuenca de Guaymas, tienen contenidos elevados de zinc (Zn), litio (Li), rubidio (Rb), cesio (Cs) y boro (B), temperaturas de hasta 291°C y un pH ~6.3. Tanto los sedimentos como los fluidos tienen altas concentraciones elevadas de CO₂ e hidrocarburos alifáticos de orden superior como metano (CH₄), etano (C₂H₆) y heptano (C₇H₁₆). Las mezclas ricas en compuestos de petróleo producido a altas temperaturas son una característica de la CP. Una lista más detallada de los orgánicos volátiles presentes en este sistema se incluye en el material suplementario tomado de Paduan et al. (2018) (Apéndice 1). En cuanto a fauna, la CP alberga una red trófica compleja diferente a la registrada en otros sistemas hidrotermales (Goffredi et al., 2017; Paduan et al., 2018, Salcedo et al., 2019; Negrete-Aranda et al., 2021).

6.1.3 Falla Transformante de Pescadero (FTP)

La FTP se extiende por 60 km entre la CP y DA. Alberga ventilas hidrotermales de baja temperatura (5°C), rodeadas por flujos de lava jóvenes y sedimento, con una profundidad promedio de 2,400 m (Goffredi et al., 2017; Clague et al., 2018 y Salcedo et al., 2019).



Figura 3. Ubicación geográfica de la Cuenca de Pescadero y la Falla Transformante de Pescadero al sur del Golfo de California con referencia en Goffredi et al., 2017 y Goffredi et al., 2021.

6.2 Selección de aislados y ensayos de viabilidad


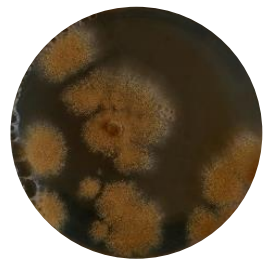

Tres micromicetes caracterizados por Hernández (2019) y provenientes de sedimentos superficiales de ventilas hidrotermales al sur del GoC, integran el total de aislados fúngicos seleccionados: *Pleosporales* sp. y *Aspergillus terreus* de la Cuenca de Pescadero, y *Eurotiales* sp. de la Falla Transformante de Pescadero (Tabla 2).

Estos microorganismos se seleccionaron porque presentaron características atractivas para su potencial empleo en bioensayos de degradación. Por ejemplo, mostraron un crecimiento más rápido respecto al observado en otros aislados provenientes de la colección de hongos de ventilas hidrotermales. Por otro lado, aislados pertenecientes al género *Aspergillus* han sido ampliamente reportados como agentes potenciales para la biodegradación de plásticos con diferentes composiciones químicas (Devi et al., 2015; D'Souza et al., 2021). En cuanto a *Eurotiales* sp., se ha evaluado exitosamente su capacidad para degradar compuestos complejos como los hidrocarburos, particularmente alcanos y alquenos (Olguin et al., 2022), lo cual representa un precedente importante del potencial degradador de este aislado.

En el presente trabajo se consideró un último criterio de selección de los aislados, correspondiente al contexto fisicoquímico del sitio del cual fueron recuperados estos aislados, ya que todos los micromicetes fueron recuperados de sedimentos hidrotermales que presentan emanaciones naturales de hidrocarburos alifáticos (Apéndice 1), algunos de los cuales (p. ej., el etano) son utilizados en los procesos de producción de plásticos sintéticos. Las características de los sistemas hidrotermales y la posible exposición de los aislados fúngicos a compuestos de alto peso molecular como los hidrocarburos podría impulsar una capacidad micodegradadora poco conocida hasta ahora hongos de mar profundo.

Con el fin de evaluar su viabilidad, los aislados fueron transferidos a cajas de Petri con medio sólido Agar Papa Dextrosa (PDA). La selección de los aislados se confirmó después de 15 días, momento en el cual se corroboró su crecimiento activo.

Tabla 2. Aislados fúngicos seleccionados para los experimentos

| Clave e identificación | Taxonomía ¹ | Origen | Morfología |
|---|--|---|---|
| <p>D <i>Pleosporales</i> sp.</p> | <p>Dominio: Eukarya (Woese et al., 1990) Reino: Fungi (Bartling 1830) <i>Phylum:</i> Ascomycota (Caval. -Sm. 1998) Clase: <i>Dothideomycetes</i> (O. E. Erikss. y Winka, 1997) Orden: <i>Pleosporales</i> (Luttr. Ex M. E Barr 1987)</p> | <p>Cuenca de Pescadero Ventila de alta temperatura</p> |  |
| <p>43-B <i>Aspergillus terreus</i></p> | <p>Dominio: Eukarya (Woese et al., 1990) Reino: Fungi (Bartling 1830) <i>Phylum:</i> Ascomycota (Caval. -Sm. 1998) Clase: <i>Eurotiomycetes</i> (O. E. Erikss. y Winka, 1997) Orden: <i>Eurotiales</i> (G. W. Martin ex Benny y Kimbr. 1980) Familia: <i>Aspergillaceae</i> (Link 1826) Género: <i>Aspergillus</i> (P. Micheli 1729) Especie: <i>Aspergillus terreus</i> (Thom 1918)</p> | <p>Cuenca de Pescadero Ventila de alta temperatura</p> |  |
| <p>I <i>Eurotiales</i> sp.</p> | <p>Dominio: Eukarya (Woese et al., 1990) Reino: Fungi (Bartling 1830) <i>Phylum:</i> Ascomycota (Caval. -Sm. 1998) Clase: <i>Eurotiomycetes</i> (O. E. Erikss. y Winka, 1997) Orden: <i>Eurotiales</i> (G. W. Martin ex Benny y Kimbr. 1980)</p> | <p>Falla Transformante de Pescadero Ventila de baja temperatura</p> |  |

¹ Consultado en Index Fungorum (www.indexfungorum.org)

6.3 Selección y preparación de sustratos plásticos



Se seleccionaron tres productos plásticos de polietileno comercialmente disponibles, cada uno con una densidad de resina diferente. Dos de estos productos fueron identificados a partir del sistema de codificación establecido por la SPI (Society of the Plastics Industry) como un



plástico de polietileno de alta densidad (HDPE) con un código de resina 2 y un plástico de polietileno de baja densidad (LDPE) con un código de resina 4. La identidad precisa del tercer producto, cuyo código de resina correspondía al número 7, fue proporcionada por la empresa que comercializa el producto, como un plástico de polietileno lineal de baja densidad (LLDPE). Esto, debido a que la categoría 7 agrupa a un conjunto diverso de plásticos cuyas resinas pueden presentarse en combinaciones o ser diferentes a los grupos 1 a 6 según el código SPI.

A fin de establecer un marco comparativo de los procesos de biodegradación y biodeterioro entre plásticos sintéticos derivados del petróleo, y plásticos de base biológica biodegradables, se integró un polímero compostable y biodegradable elaborado con fécula de maíz (BDFM; HappyDoggy Bolsa marca ECOalternativas) (Tabla 3). Los aditivos y las formulaciones químicas de los plásticos seleccionados se desconocen debido a que sus fabricantes no proporcionaron esta información.

Previamente a su empleo en los bioensayos de tolerancia y degradación, se estandarizó el tamaño de muestra de los plásticos cortando cuadros de 1.5 x 1.5 cm de lado y se desinfectaron sus superficies con alcohol etílico al 70%. Estas muestras se sometieron a un proceso de esterilización, depositando cada tipo de plástico en un recipiente de vidrio y empleando calor, con un ciclo de 15 minutos de esterilización.

Tabla 3. Productos plásticos sintéticos y biodegradables seleccionados para bioensayos de tolerancia y degradación

| <p style="text-align: center;">HDPE¹</p> | <p style="text-align: center;">LDPE¹</p> |
|--|---|
| <p style="text-align: center;">High density polyethylene Polietileno de alta densidad</p> | <p style="text-align: center;">Low density polyethylene Polietileno de baja densidad</p> |
| <p style="text-align: center;">  </p> | <p style="text-align: center;">  </p> |
| <p style="text-align: center;">Recipiente de alimentos (embalaje)</p> | <p style="text-align: center;">Bolsas para basura (película plástica)</p> |

| LLDPE¹ | BDFM² |
|---|---|
| <p>Linear-low density polyethylene Polietileno lineal de baja densidad</p> | <p>Biodegradable bio-based plastic Plástico biodegradable de fécula de maíz</p> |
|  |  |
| <p>Recipiente de alimentos (embalaje)</p> | <p>Bolsas para heces de mascota (película plástica)</p> |

1 Plástico sintético “no biodegradable” derivado de petróleo.

2 Plástico de base biológica, biodegradable y compostable.

6.4 Bioensayos de tolerancia ante la presencia de sustratos plásticos

Los bioensayos de tolerancia se desarrollaron bajo condiciones aeróbicas y en cajas de Petri empleando medio de cultivo marino sólido (Difco TM Marine Agar 2216). Se establecieron todas las combinaciones posibles entre los tres aislados fúngicos (*Pleosporales* sp. (D), *Aspergillus terreus* (43-B) y *Eurotiales* sp. (I)) y los cuatro sustratos plásticos (HDPE, LDPE, LLDPE y BDFM) incluyendo controles fúngicos (Tabla 4; Fig. 4). Las cinco grandes categorías de condiciones experimentales resultantes fueron: a) Condición 1: plásticos de polietileno de alta densidad (HDPE) inoculados con cada uno de los aislados fúngicos, b) Condición 2: plásticos de polietileno de baja densidad (LDPE) inoculados con cada uno de los aislados fúngicos, c) Condición 3: plásticos de polietileno lineal de baja densidad (LLDPE) inoculados con cada uno de los aislados fúngicos, d) Condición 4: plásticos de fécula de maíz biodegradables (BDFM) inoculados con cada uno de los aislados fúngicos y e) Condición 5 (Controles): aislados fúngicos inoculados en cajas de Petri sin muestras plásticas, donde los aislados fúngicos corresponden a *Pleosporales* sp. (D), *Aspergillus terreus* (43-B) y *Eurotiales* sp. (I) (Tabla 4). Cada una de las combinaciones plástico-aislado se realizó por triplicado. En todos los casos la muestra plástica, previamente esterilizada, se colocó al centro de las cajas de Petri y, sobre la superficie de estos plásticos se inoculó un

tapón de micelio de aproximadamente 1 cm del aislado correspondiente (Fig. 4). Las muestras se incubaron durante 15 días a temperatura ambiente de laboratorio (23°C) y ciclos de luz/obscuridad de 12/12.

Tabla 4. Diseño experimental de los bioensayos de tolerancia. La nomenclatura correspondiente a cada casilla incluye: a) números que indican el número de réplica (1, 2 o 3), b) una sigla, que hace referencia a un sustrato plástico (HDPE, LDPE, LLDPE o BDFM), o a un control (CO) y, c) una letra que designa la clave del aislado en cuestión (*Pleosporales* sp. (D), *Aspergillus terreus* (43-B) y *Eurotiales* sp. (I)). Las casillas marcadas con asterisco (*) indican las muestras que se seleccionaron para un análisis posterior con microscopía electrónica de barrido. Esta selección incluyó al menos una réplica para cada condición.

| Condiciones de los bioensayos | | | | |
|--------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------------------|
| Condición 1 | Condición 2 | Condición 3 | Condición 4 | Condición 5 (CO=controles) |
| 1 HDPE D | 1 LDPE D | 1 LLDPE D | 1 BDFM D * | 1 CO D |
| 2 HDPE D | 2 LDPE D | 2 LLDPE D * | 2 BDFM D | 2 CO D |
| 3 HDPE D * | 3 LDPE D * | 3 LLDPE D | 3 BDFM D | 3 CO D |
| 1 HDPE 43-B | 1 LDPE 43-B | 1 LLDPE 43-B | 1 BDFM 43-B | 1 CO 43-B |
| 2 HDPE 43-B | 2 LDPE 43-B | 2 LLDPE 43-B | 2 BDFM 43-B * | 2 CO 43-B |
| 3 HDPE 43-B * | 3 LDPE 43-B * | 3 LLDPE 43-B * | 3 BDFM 43-B | 3 CO 43-B |
| 1 HDPE I | 1 LDPE I | 1 LLDPE I | 1 BDFM I * | 1 CO I |
| 2 HDPE I | 2 LDPE I * | 2 LLDPE I | 2 BDFM I | 2 CO I |
| 3 HDPE I * | 3 LDPE I | 3 LLDPE I * | 3 BDFM I | 3 CO I |

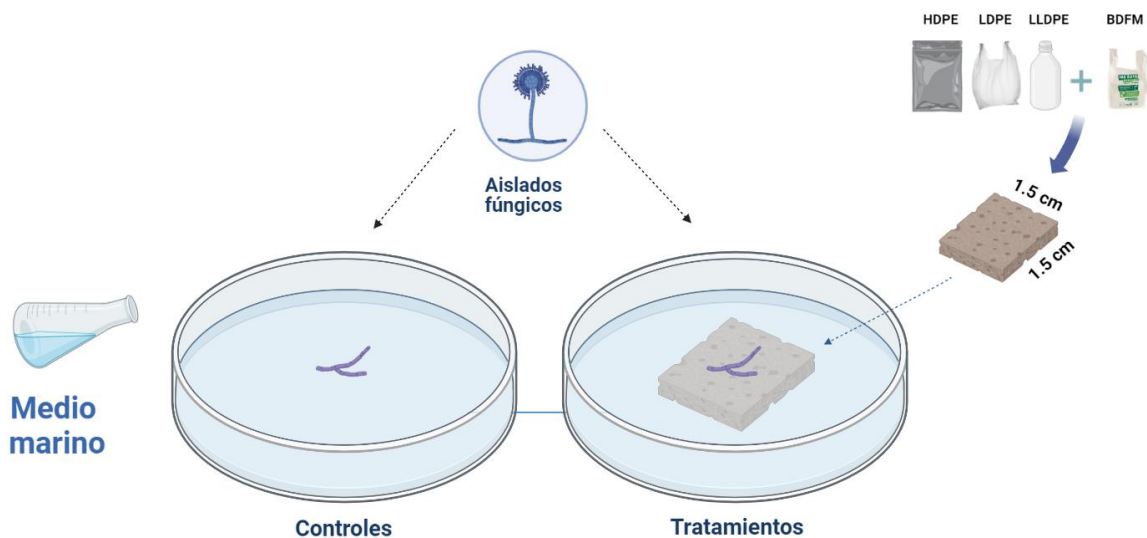


Figura 4. Diagrama del trabajo experimental correspondiente a los bioensayos de tolerancia.

Para dar seguimiento al crecimiento fúngico, se realizó un registro fotográfico de las colonias durante dos semanas en los días 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15 bajo condiciones idénticas de luz y ajustes de cámara (ISO 200, 1/80 seg f/5.6 64 mm), empleando un equipo Canon EOS 70D. Las imágenes obtenidas se procesaron con el programa ImageJ (v 1.53a) a fin de cuantificar el área total del crecimiento radial para cada uno de los aislados en milímetros. Se construyeron curvas de crecimiento en el programa Excel calculando los valores promedio de las tres réplicas, incluyendo la desviación estándar, con el objetivo de evaluar las tendencias de crecimiento de cada uno de los aislados. Además, se obtuvieron las tasas de crecimiento correspondiente en porcentaje.

Después de 15 días de incubación se seleccionaron muestras representativas de cada combinación plástico-aislado (Tabla 4) para analizar, mediante microscopía electrónica de barrido, los cambios a microescala en la morfología de las superficies de los plásticos, buscando señales de biodeterioro, así como el desarrollo de estructuras fúngicas y su interacción con la superficie de cada muestra. Para ello, las muestras seleccionadas se sometieron a un proceso de secado durante 5 días en alcohol al 70%. Las películas procesadas se cortaron en cuadros de 1 x 1 cm, recubriendo su superficie con oro paladio. Posteriormente se sometieron a vacío profundo para visualizarlas con un microscopio electrónico de barrido. Se obtuvieron al menos 5 imágenes de cada aislado.

6.5 Bioensayos de degradación *in vitro* de los sustratos plásticos

Los bioensayos de degradación *in vitro* se desarrollaron considerando tratamientos y controles según la metodología descrita por Velez et al., (2020) de la siguiente manera: se establecieron todas las combinaciones posibles aislado-plástico (Tabla 5). Si bien se consideraron los mismos aislados fúngicos (*Pleosporales* sp. (D), *Aspergillus terreus* (43-B) y *Eurotiales* sp. (I)), y las mismas muestras plásticas (HDPE, LDPE, LLDPE y BDFM) empleadas previamente en los bioensayos de tolerancia, estas últimas se agruparon en dos categorías al integrar dos condiciones experimentales nuevas: la primera, utilizando sustratos plásticos que recibieron un pretratamiento abiótico de exposición a luz ultravioleta (UV) a una longitud de onda de 254 nm, con un ciclo de exposición de 60 minutos por cada una de las caras de las muestras (2 ciclos en total). La segunda condición experimental, utilizando los mismos sustratos plásticos, pero sin ser expuestos a un pretratamiento abiótico de radiación UV. Así, las combinaciones resultantes aislado-plástico incluyeron a estos dos grupos de plásticos (tanto los irradiados como los no irradiados) así como los controles experimentales, considerando tres réplicas por cada combinación (Tabla 5; Fig. 5). Anterior a su uso en los bioensayos de degradación, se cuantificó la masa inicial de todas las muestras plásticas en una balanza digital. Posteriormente, sobre la superficie de todos los plásticos se inocularon tapones de micelio de aproximadamente 1 cm correspondientes a cada uno de los aislados fúngicos considerando el diseño de combinaciones posibles aislado-plástico (Fig. 5). Cada microcultivo resultante se colocó en un tubo Falcon de 50 mL que contenían medio líquido Sales de Vogel (Moltox; Vogel's 50X Salt Solution 26-681) a una concentración de 0.98% con un volumen final de 20 mL (Fig. 5). Los controles fúngicos consistieron en un tapón de micelio de cada uno de los aislados creciendo sin sustratos de plásticos en tubos de Falcon con el medio líquido antes mencionado (Tabla 5, condición 5). Por su parte, los controles plásticos irradiados y no irradiados (Tabla 5, condición 6), consistieron únicamente en sustratos plásticos sin un tapón de micelio, y se recuperaron directamente para un análisis de sus superficies empleando microscopía electrónica de barrido. A este mismo análisis se sometieron muestras representativas de cada combinación aislado-plástico (Tabla 5, casillas marcadas con un asterisco) con la finalidad de evaluar señales de biodeterioro superficial, así como la formación de estructuras fúngicas sobre los sustratos plásticos empleados. Se seleccionaron las micrográficas más representativas del biodeterioro y el crecimiento fúngico.

Debido a que las Sales de Vogel carecen de una fuente de carbono orgánico, la única fuente de este elemento estaría representada por las muestras plásticas (HDPE, LDPE, LLDPE y BDFM). Todos los tubos se incubaron a temperatura ambiente durante 15 días en condiciones aeróbicas y ciclos de luz/obscuridad de 12/12.

Tabla 5. Diseño experimental de los bioensayos de degradación. La nomenclatura correspondiente a cada casilla incluye: a) números que indican el número de réplica (1, 2 o 3), b) una sigla, que hace referencia a un sustrato plástico irradiado o no irradiado (HDPE, LDPE, LLDPE o BDFM), o a un control (CO) y, c) una letra que designa la clave del aislado en cuestión (*Pleosporales* sp. (D), *Aspergillus terreus* (43-B) y *Eurotiales* sp. (I)). Las casillas marcadas con asterisco (*) indican las muestras que se seleccionaron para un análisis posterior con microscopía electrónica de barrido. Esta selección incluyó al menos una réplica para cada condición.

| | Condición 1 | Condición 2 | Condición 3 | Condición 4 | Condición 5 (controles hongos) | Condición 6 (controles plásticos) |
|--|---------------|---------------|----------------|---------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Muestras que SI recibieron pretratamiento UV | 1 HDPE D | 1 LDPE D | 1 LLDPE D * | 1 BDFM D | 1 CO D | HDPE |
| | 2 HDPE D * | 2 LDPE D | 2 LLDPE D | 2 BDFM D | 2 CO D | LDPE |
| | 3 HDPE D | 3 LDPE D * | 3 LLDPE D | 3 BDFM D * | 3 CO D | LLDPE |
| | 1 HDPE 43-B | 1 LDPE 43-B | 1 LLDPE 43-B * | 1 BDFM 43-B * | 4 CO 43-B | BDFM |
| | 2 HDPE 43-B | 2 LDPE 43-B * | 2 LLDPE 43-B | 2 BDFM 43-B | 5 CO 43-B | |
| | 3 HDPE 43-B * | 3 LDPE 43-B | 3 LLDPE 43-B | 3 BDFM 43-B | 6 CO 43-B | |
| | 1 HDPE I * | 1 LDPE I | 1 LLDPE I | 1 BDFM I | 7 CO I | |
| | 2 HDPE I | 2 LDPE I | 2 LLDPE I * | 2 BDFM I | 8 CO I | |
| | 3 HDPE I | 3 LDPE I * | 3 LLDPE I | 3 BDFM I * | 9 CO I | |

| | Condición 1 | Condición 2 | Condición 3 | Condición 4 | Condición 5 (controles hongos) | Condición 6 (Controles plásticos) |
|--|---------------|---------------|----------------|---------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Muestras que NO recibieron pretratamiento UV | 1 HDPE D * | 1 LDPE D * | 1 LLDPE D | 1 BDFM D | 1 CO D | HDPE |
| | 2 HDPE D | 2 LDPE D | 2 LLDPE D * | 2 BDFM D * | 2 CO D | LDPE |
| | 3 HDPE D | 3 LDPE D | 3 LLDPE D | 3 BDFM D | 3 CO D | LLDPE |
| | 1 HDPE 43-B * | 1 LDPE 43-B * | 1 LLDPE 43-B * | 1 BDFM 43-B * | 4 CO 43-B | BDFM |
| | 2 HDPE 43-B | 2 LDPE 43-B | 2 LLDPE 43-B | 2 BDFM 43-B | 5 CO 43-B | |
| | 3 HDPE 43-B | 3 LDPE 43-B | 3 LLDPE 43-B | 3 BDFM 43-B | 6 CO 43-B | |
| | 1 HDPE I | 1 LDPE I | 1 LLDPE I * | 1 BDFM I | 7 CO I | |
| | 2 HDPE I * | 2 LDPE I | 2 LLDPE I | 2 BDFM I * | 8 CO I | |
| | 3 HDPE I | 3 LDPE I * | 3 LLDPE I | 3 BDFM I | 9 CO I | |

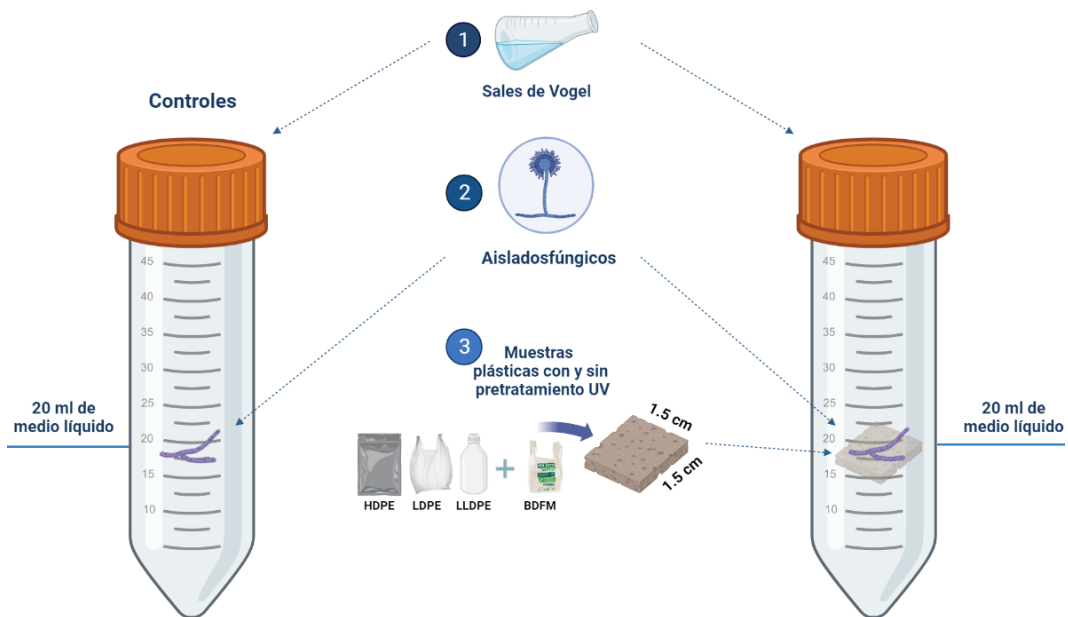


Figura 5. Diagrama del diseño experimental correspondiente a los bioensayos de degradación.

En la presente investigación se cuantificaron dos parámetros para evaluar la biodegradación: 1) la cuantificación de una posible reducción en la masa de cada muestra plástica al término de los bioensayos de degradación (día 15) y, 2) la cuantificación de la biomasa fúngica producida para cada condición a través del peso seco del micelio recuperado al final de los bioensayos (día 15). En relación con esta segunda variable, se recuperó el micelio adherido a la superficie de los plásticos considerando únicamente dos de tres réplicas para cada combinación aislado-plástico. Una vez separadas, la biomasa recuperada y la muestra plástica se colocaron cada una sobre cuadrados de papel filtro para su secado en un horno durante 120 minutos a 55°C. Esto, debido a que muchos plásticos de base biológica o bioplásticos son higroscópicos. Transcurrido ese tiempo, las muestras de biomasa y plásticos se pesaron en una balanza digital y los valores se registraron en un documento Excel.

La pérdida de masa de las muestras plásticas se calculó como:

$$M_i - M_f = M_p$$

Donde,

M_i = Masa inicial muestra plástica

M_f = Masa final muestra plástica tras 15 días de incubación

M_p = masa plástica perdida

Mientras que la cuantificación de la biomasa fúngica de calculó como:

$$P_{f1}M_r - P_{f2} = PS_{bf}$$

Donde,

$P_{f1}M_r$ = Peso del papel filtro con el micelio fúngico recuperado tras 15 días de incubación

P_{f2} = Peso inicial papel filtro

PS_{bf} = Peso seco biomasa fúngica

6.6 Análisis estadísticos

6.6.1 Análisis de varianza con permutaciones PERMANOVA

El análisis de varianza multivariado con permutaciones PERMANOVA es una herramienta estadística basada en la partición geométrica de la variación multivariada. Esta prueba semiparamétrica permite evaluar la respuesta simultánea de una o más variables, potencialmente independientes, a uno o más factores en un diseño experimental complejo. PERMANOVA calcula los valores p utilizando permutaciones y admite cualquier medida de disimilitud. Calcula el estadístico pseudo-F a partir de una matriz de distancia basado en la noción de expectativas de cuadrados medios y con ello, somete a prueba la hipótesis nula de no diferencias significativas en las posiciones de los centroides, siendo estos los niveles de cada factor o bien, cualquier fuente de variación (Anderson, 2001; 2005; 2014).

Con el fin de analizar la varianza en términos de: a) la masa perdida de muestras plásticas de HDPE, LDPE, LLDPE y BDFM, y b) la biomasa fúngica producida por los tres aislados (*Pleosporales* sp. (D), *Aspergillus terreus* (43-B) y *Eurotiales* sp. (I)) en diferentes condiciones experimentales, se realizaron dos análisis de PERMANOVA. Ambos análisis se realizaron con el programa Primer v7 y PERMANOVA+ (PRIMER-e, Ltd. Plymouth, R.U.). A continuación, se describe el diseño experimental para cada conjunto de variables.

6.7 Diseño experimental

6.7.1 PERMANOVA masa perdida de sustratos plásticos

Para probar la hipótesis nula de que no hay diferencias significativas en la masa perdida de muestras de diferentes tipos de plásticos, se elaboró un diseño experimental (Tabla 6) que incluyó los siguientes factores fijos: tratamiento (2 niveles), plástico (4 niveles) y aislado (3 niveles). Los valores fueron transformados empleando raíz cuadrada, y se partió de una matriz de distancias euclidianas. Para obtener los valores de pseudo-F y de significancia ($\leq 0,05$), se seleccionaron 999 permutaciones bajo un modelo reducido.

Los factores que mostraron diferencias estadísticas significativas fueron seleccionados para realizar una prueba por pares *a posteriori*, con el fin de determinar diferencias entre sus niveles.

Tabla 6. Diseño experimental para el análisis de varianza PERMANOVA 1

| Factor | Niveles | Fijo/aleatorio |
|---------------|-------------------------------|-----------------------|
| Tratamiento | Con UV Sin UV | Fijo |
| Plástico | HDPE LDPE LLDPE BDFM | Fijo |
| Aislado | D 43-B I | Fijo |

6.7.2 PERMANOVA biomasa fúngica

Para evaluar el efecto de los factores utilizados en el primer análisis (Tabla 6) sobre la biomasa fúngica producida, se implementó un segundo diseño (PERMANOVA 2). A diferencia del primer diseño, el factor plástico incluyó 5 niveles, debido a la incorporación del conjunto de datos de los controles. Los valores fueron transformados empleando raíz cuadrada y se partió de una matriz de similitud Bray-Curtis. Los valores de pseudo-F y de significancia ($\leq 0,05$) se calcularon a partir de 999 permutaciones bajo un modelo reducido. Al igual que en el primer análisis PERMANOVA, se realizaron pruebas por pares en aquellos factores que mostraron diferencias significativas.

Tabla 7. Diseño experimental para el análisis de varianza PERMANOVA 2

| Factor | Niveles | Fijo/aleatorio |
|---------------|--|-----------------------|
| Tratamiento | Con UV Sin UV | Fijo |
| Plástico | HDPE LDPE LLDPE BDFM CONTROL | Fijo |
| Aislado | D 43-B I | Fijo |

RESULTADOS

7.1 Tolerancia a la presencia de sustratos plásticos

Con base en las curvas de crecimiento (Fig. 6), se observó que los aislados provenientes de la Cuenca de Pescadero (CP) (*Pleosporales* sp. y *Aspergillus terreus*) mostraron un patrón similar con relación al desarrollo de sus micelios sobre sustratos biodegradables (BD) y no BD. En ambos casos, el micelio de estos micromicetes presentó un mayor desarrollo en presencia del plástico sintético de polietileno de baja densidad (LDPE), en donde:

- *Pleosporales* sp. tuvo un tamaño de micelio de 606.8 mm² en el día 15 del experimento, superando el área total de crecimiento radial del control fúngico en un 7.47% y con una tasa de crecimiento promedio de 77.6% durante 15 días.
- *Aspergillus terreus* mostró un tamaño de micelio de 923.9 mm² en el día 15 del experimento, superando el área total de crecimiento radial del control fúngico en un 7.8% y una tasa de crecimiento promedio de 153.1% durante 15 días.

El micelio del único aislado proveniente de la Falla Transformante de Pescadero presentó su mayor desarrollo en presencia del plástico biodegradable de fécula de maíz (BDFM), en donde:

- *Eurotiales* sp. desarrolló un micelio con un tamaño de 3400.8 mm² en el día 15 del experimento, superando el área total de crecimiento radial del control fúngico en un 44.2% y una tasa de crecimiento promedio de 242.5% durante 15 días. Esto lo

convierte en el aislado de mayor crecimiento fúngico observado sobre un sustrato biodegradable.

El menor crecimiento fúngico de los aislados de la Cuenca de Pescadero (*Pleosporales* sp. y *A. terreus*) se registró sobre sustratos de polietileno de alta densidad (HDPE), mientras que *Eurotiales* sp. (FTP) registró su menor crecimiento sobre sustratos de polietileno de baja densidad (LDPE). A continuación, se presenta el crecimiento fúngico de los tres aislados sobre los distintos sustratos plásticos en orden ascendente durante etapas tempranas (15 días) de los bioensayos de tolerancia:

a) Para *Pleosporales* sp.

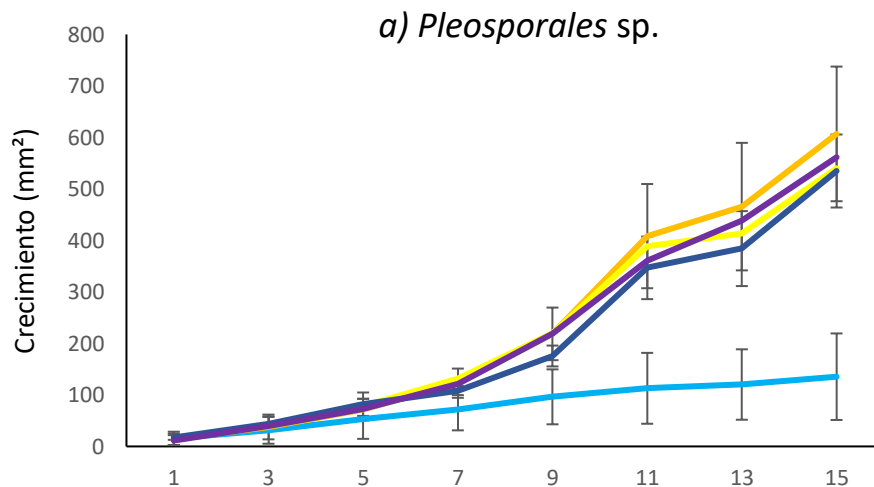
HDPE < BDFM < LLDPE < LDPE

b) Para *Aspergillus terreus*:

HDPE < BDFM < LLDPE < LDPE

c) Para *Eurotiales* sp.

LDPE < LLDPE < HDPE < BDFM



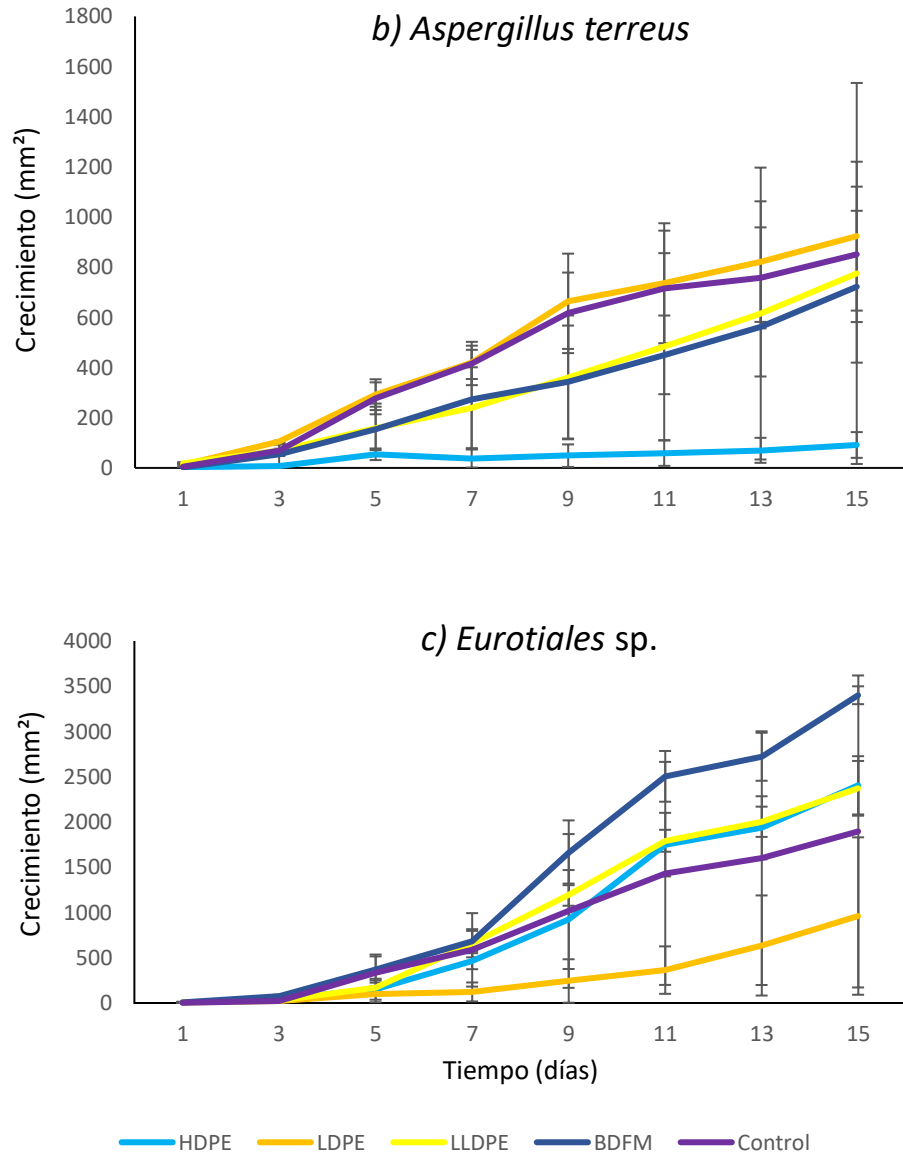
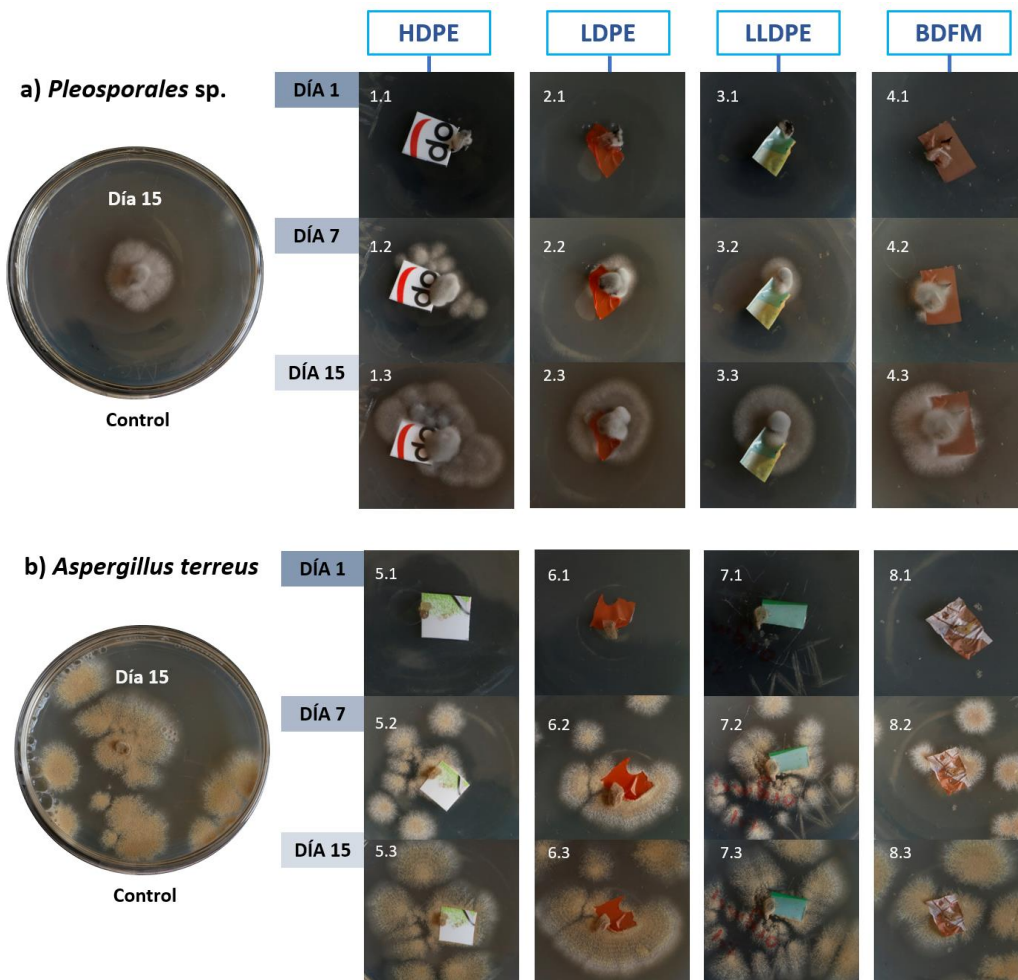


Figura 6. Curvas de crecimiento de los aislados fúngicos en presencia de diferentes sustratos plásticos durante 15 días. El área promedio de los aislados está en mm² y las barras de error representan la desviación estándar de los datos del área total según las réplicas analizadas. El eje “y” corresponde al crecimiento de los aislados en milímetros cuadrados (mm²) y el eje “x” al tiempo transcurrido en días.

De acuerdo con las observaciones macroscópicas, no se registran cambios aparentes en las características morfológicas de los aislados en tratamiento respecto a los aislados controles (Fig. 7). *Pleosporeales* sp. y *A. terreus* (CP), exhibieron un crecimiento pronunciado en las

zonas adyacentes al inóculo inicialmente depositado sobre la superficie de los sustratos plásticos, con una tendencia de crecimiento hacia la periferia de las muestras plásticas. Particularmente, *Pleosporales* sp. formó un micelio aéreo globoso abundante, color gris humo y márgenes blancos ondulados e irregulares en condiciones de tratamiento (Fig. 7a), mientras que *A. terreus* creció irregularmente, con un micelio color marrón-canela con bordes blancos y finamente granulado (Fig. 7b). Finalmente, *Eurotiales* sp. de FTP mostró un crecimiento radial, con un micelio blanco esponjoso que cubrió por completo la superficie de todos los plásticos (Fig. 7c).



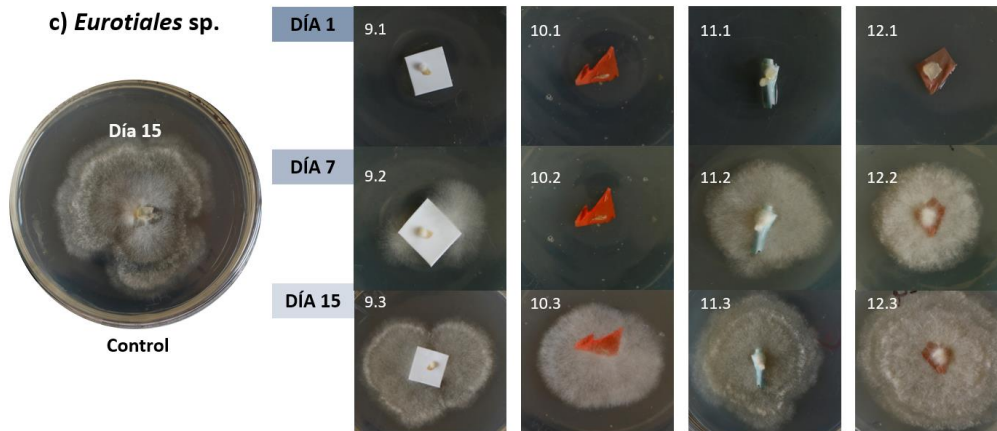


Figura 7. Crecimiento y características macroscópicas de los aislados de a) *Pleosporales* sp., b) *Aspergillus terreus* y c) *Eurotiales* sp. en presencia de plásticos (HDPE, LDPE, LLDPE y BDFM) durante los bioensayos de tolerancia en los días 1, 7 y 15.

7.1.1 Micrografías obtenidas con microscopía electrónica de barrido en los bioensayos de tolerancia

El análisis topográfico de los plásticos controles mediante microscopía electrónica de barrido mostró diferencias estructurales en sus relieves superficiales, con superficies rugosas y granuladas en el plástico biodegradable (BDFM) (Fig. 8-1d), y superficies aparentemente lisas en los plásticos de PE (Figs. 8-1a, 8-1b y 8-1c). Las rasgaduras observadas en estos últimos plásticos podrían deberse al proceso de corte mecánico o manipulación experimental.

En las muestras experimentales, los hongos filamentosos inoculados formaron redes de micelio, así como agregados de hifas (p. ej., Figs. 8-2a, 8-3b y 8-4c), esporas (Figs. 8-3a y 8-4d) y, en algunos casos, estructuras de reproducción asexual (Figs. 8-3b, 8-3d y 9). En proximidad con algunas hifas se pudieron observar agrietamientos, levantamientos de capas superficiales plásticas y rasgaduras (p. ej., Figs. 8-2a, 8-2b, 8-2c, 8-4d y 8-5d). Estas señales de daño mecánico sugieren una unión reciente del hongo con la superficie del plástico, así como su adherencia a la matriz polimérica e interacción con los componentes del plástico. En esta misma línea, el crecimiento de *Pleosporales* sp. sobre plásticos de polietileno de baja densidad (LDPE) constituye un ejemplo representativo de adherencia fúngica, ya que algunos márgenes de las hifas se encontraron unidas a la capa más superficial del plástico (Fig. 8-2b), promoviendo la aparición de rasgaduras y el rompimiento mecánico de la matriz exterior del plástico, señales que son consideradas importantes como parte del proceso de biodeterioro.

De los tres micromicetes, *A. terreus* fue el único capaz de formar hifas y largas cadenas de conidios uninucleados y conidióforos con cabezas conidiales columnares sobre las superficies de plásticos LDPE (Fig. 8-3b) y biodegradables (BDFM) (Fig. 8-3d). Destaca la presencia abundante de estas estructuras en la matriz del plástico biodegradable, superficie en la cual se registró una compleja red de micelio que penetró, fragmentó y separó al plástico en diferentes capas, haciendo del plástico un material más biodisponible (Figs. 9a y 9c). Además, se observó la intrusión de esporas e hifas por debajo de la matriz más superficial, así como el desprendimiento de pequeñas partículas plásticas (Fig. 9b). Por su parte, *Eurotiales* sp. formó las redes hifales más extensas y abundantes en contacto cercano con sustratos de LLDPE y BDFM, con un desarrollo aéreo de las mismas. Por debajo de estas redes de micelio se observaron rasgaduras y cambios en la rugosidad del plástico (p. ej., Figs. 8-4c y 8-5d).

Las micrografías se seleccionaron de acuerdo con su representatividad tanto para el biodeterioro como para las estructuras fúngicas desarrolladas, y son un reflejo de aquellos casos en los que se produjo más biomasa y en los que se perdió una mayor cantidad de masa plástica, por ello, su escala no es la misma en todos los casos.

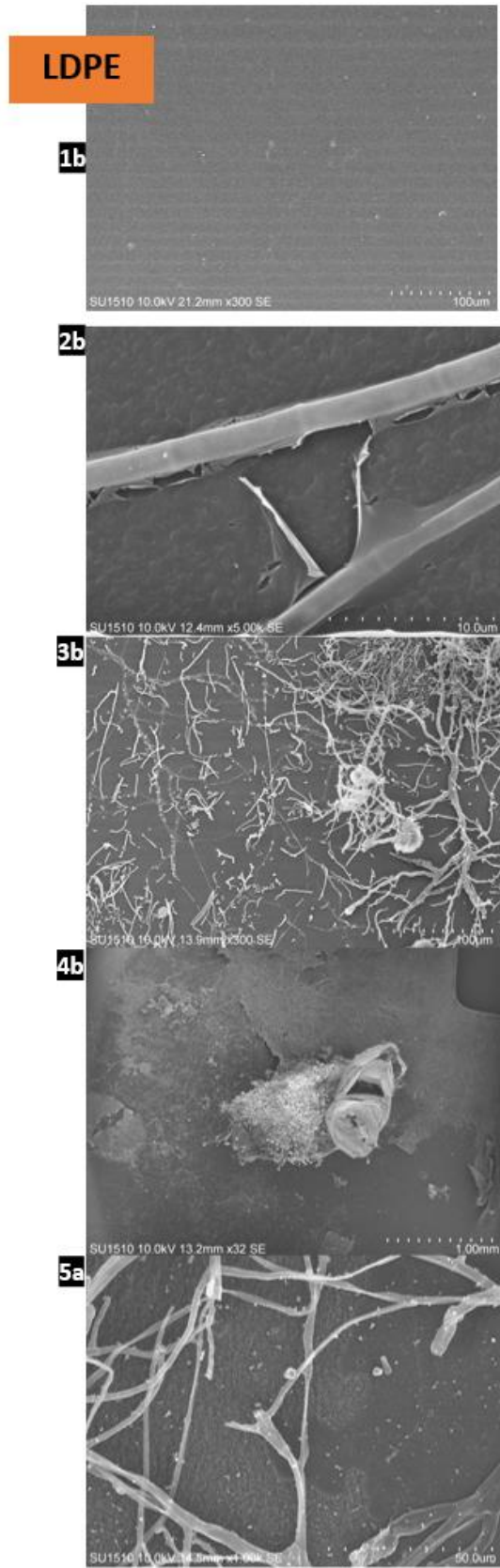
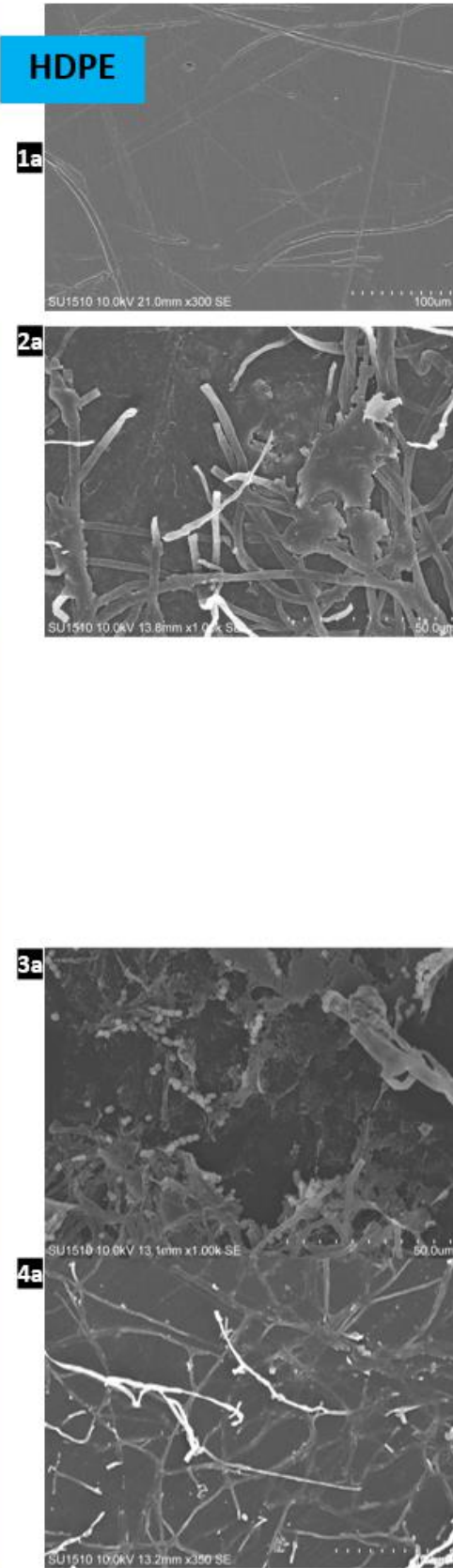
Superficie de los plásticos con hongos

Eurotiales sp. (I)

Aspergillus terreus
(43-B)

Pleosporales sp. (D)

Control superficial:
plásticos sin hongos



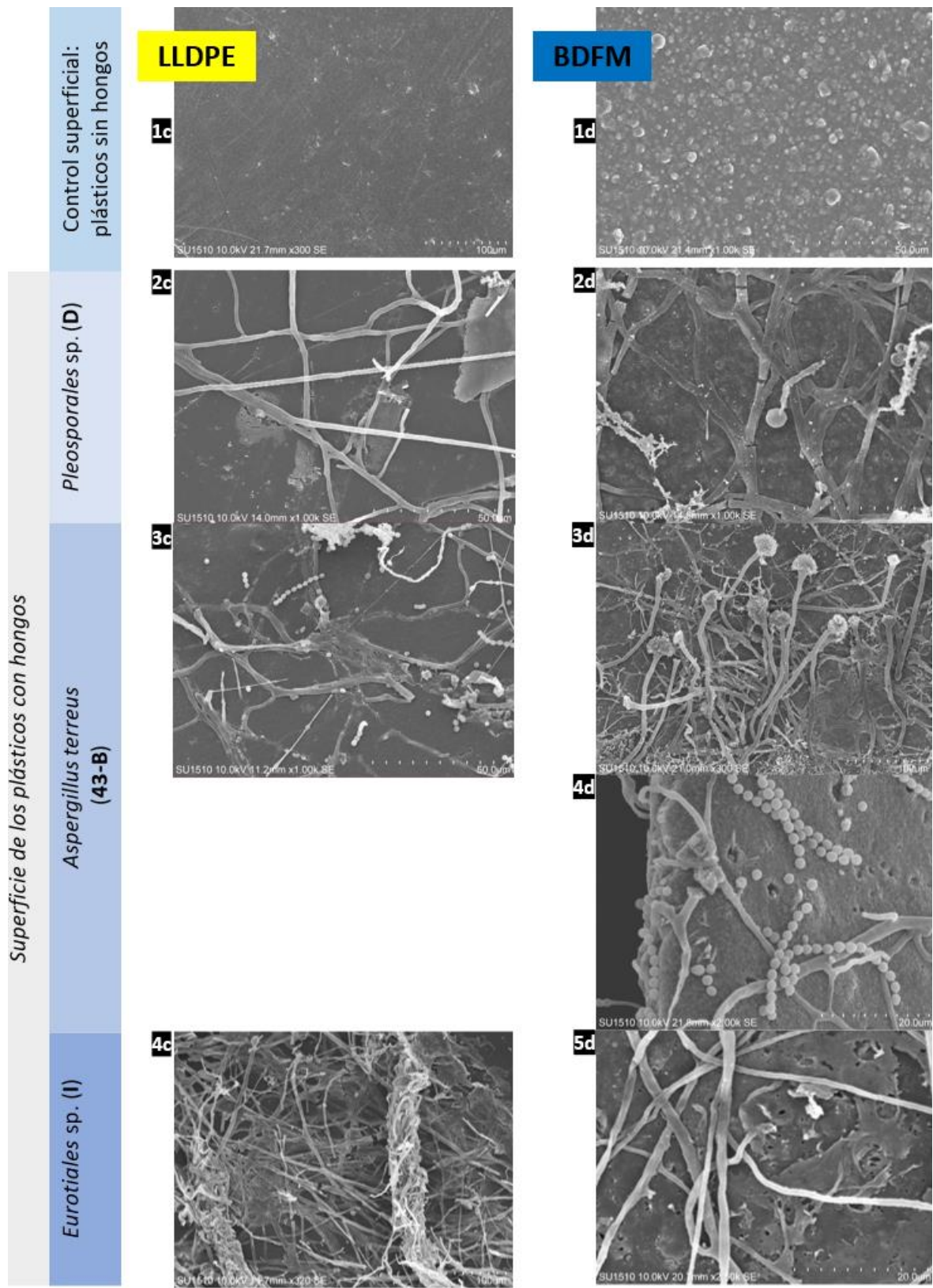


Figura 8. Micrografías de microscopía electrónica de barrido (SEM) que muestran la morfología superficial de plásticos biodegradables y no biodegradables después de 15 días de incubación en

cultivos sólidos. Las imágenes enumeradas como 1a, 1b, 1c y 1d corresponden a los plásticos controles que no fueron inoculados. El resto de las imágenes corresponden a las superficies de los plásticos que fueron inoculados con los micromicetes *Pleosporales* sp., *Aspergillus terreus* y *Eurotiales* sp. Las imágenes fueron seleccionadas de acuerdo con su representatividad, por lo que la escala varía entre cada una de ellas.

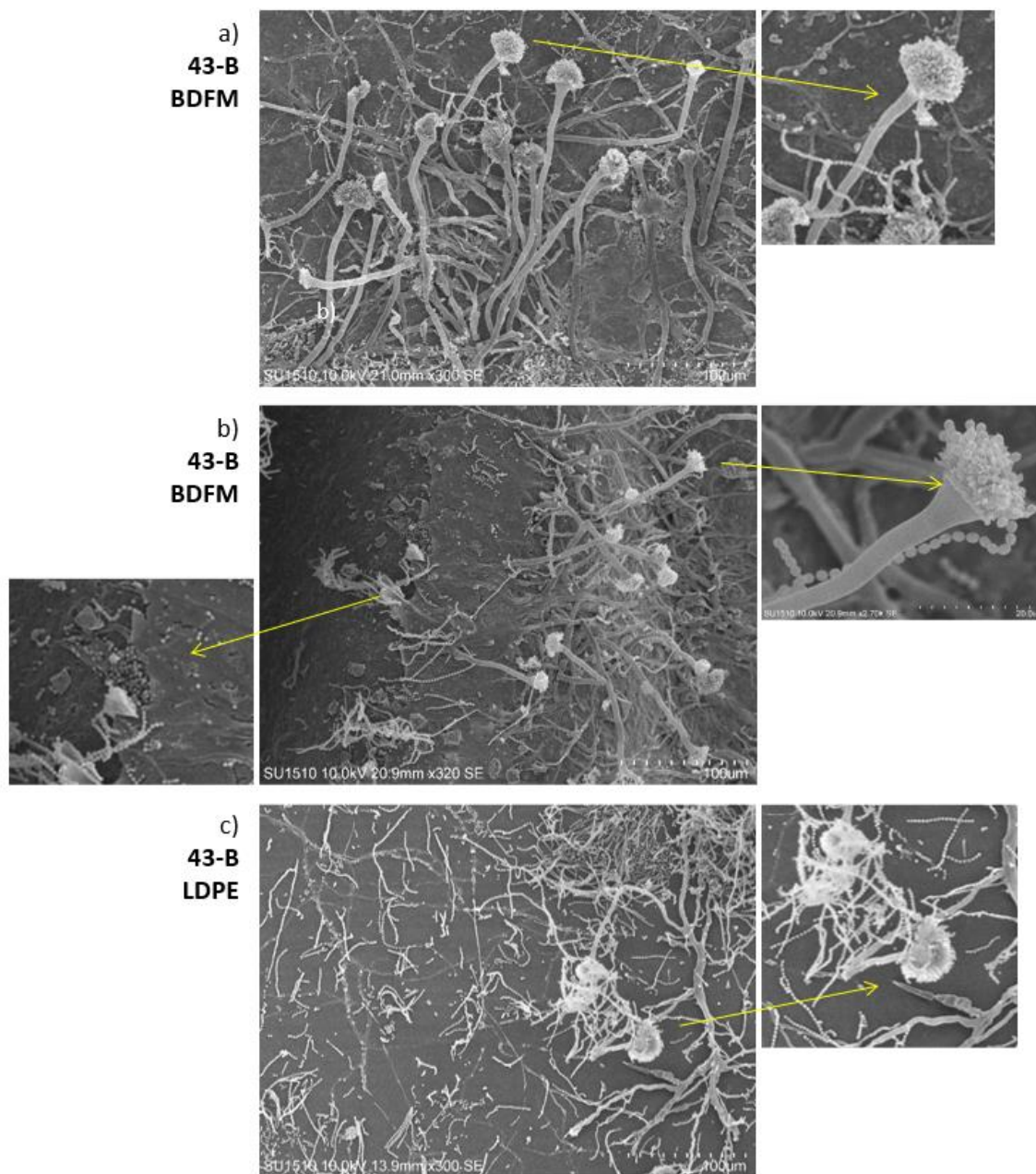


Figura 9. Micrografías SEM donde se muestra la colonización fúngica sobre sustratos plásticos. Las flechas indican estructuras de reproducción asexual (conidióforos) por parte de *Aspergillus terreus* (43-B) sobre la superficie de plásticos biodegradables de fécula de maíz (BDFM) (Imágenes 9a y 9b)

y plásticos de polietileno de baja densidad (LDPE) (Imagen 9c). En la imagen b) se observa la intrusión de esporas fúngicas por debajo de la capa superficial del plástico biodegradable.

7.2 Bioensayos de degradación *in vitro*

Debido a que todos los aislados pudieron crecer en presencia de plásticos de polietileno y biodegradables durante los bioensayos de tolerancia, se probó su capacidad para deteriorar y degradar estos mismos sustratos empleándolos como única fuente de carbono. Así, en los bioensayos de degradación *in vitro* observamos el siguiente comportamiento de los aislados:

Un crecimiento macroscópico disminuido de *Pleosporales* sp., particularmente sobre sustratos biodegradables irradiados (BDFM-UV) en un medio líquido pobre en carbono (Fig. 10a), contrastante al micelio abundante que registró cuando se empleó medio marino sólido (Fig. 8-2d). Por otro lado, el micelio de *A. terreus* se desarrolló principalmente ante la presencia de sustratos de alta densidad no irradiados (HDPE) (Fig. 10g) e irradiados HDPE-UV (Fig. 10b), con un marcado crecimiento hacia la periferia de estas muestras. En el resto de los sustratos el crecimiento fue prácticamente nulo. Finalmente, *Eurotiales* sp. destacó del resto de los aislados, ya que su micelio fue el más abundante, pudiendo crecer sobre todos los sustratos plásticos irradiados y no irradiados. Su mayor crecimiento se registró en los tres tipos de plásticos de polietileno, cubriendo por completo la capa superior de estos plásticos (Figs. 10-d, 10-e, 10-f, 10-i, 10-j y 10-k). Se omiten las descripciones y las imágenes de aquellos casos en los que el crecimiento fue incipiente o no detectable macroscópicamente.

En cuanto a los controles de los hongos, su crecimiento micelial fue menor que en los tratamientos (Figs. 10l, y 10n), excepto para *A. terreus*, que pudo crecer bien incluso en ausencia de una fuente potencialmente aprovechable de carbono (Fig. 10m).

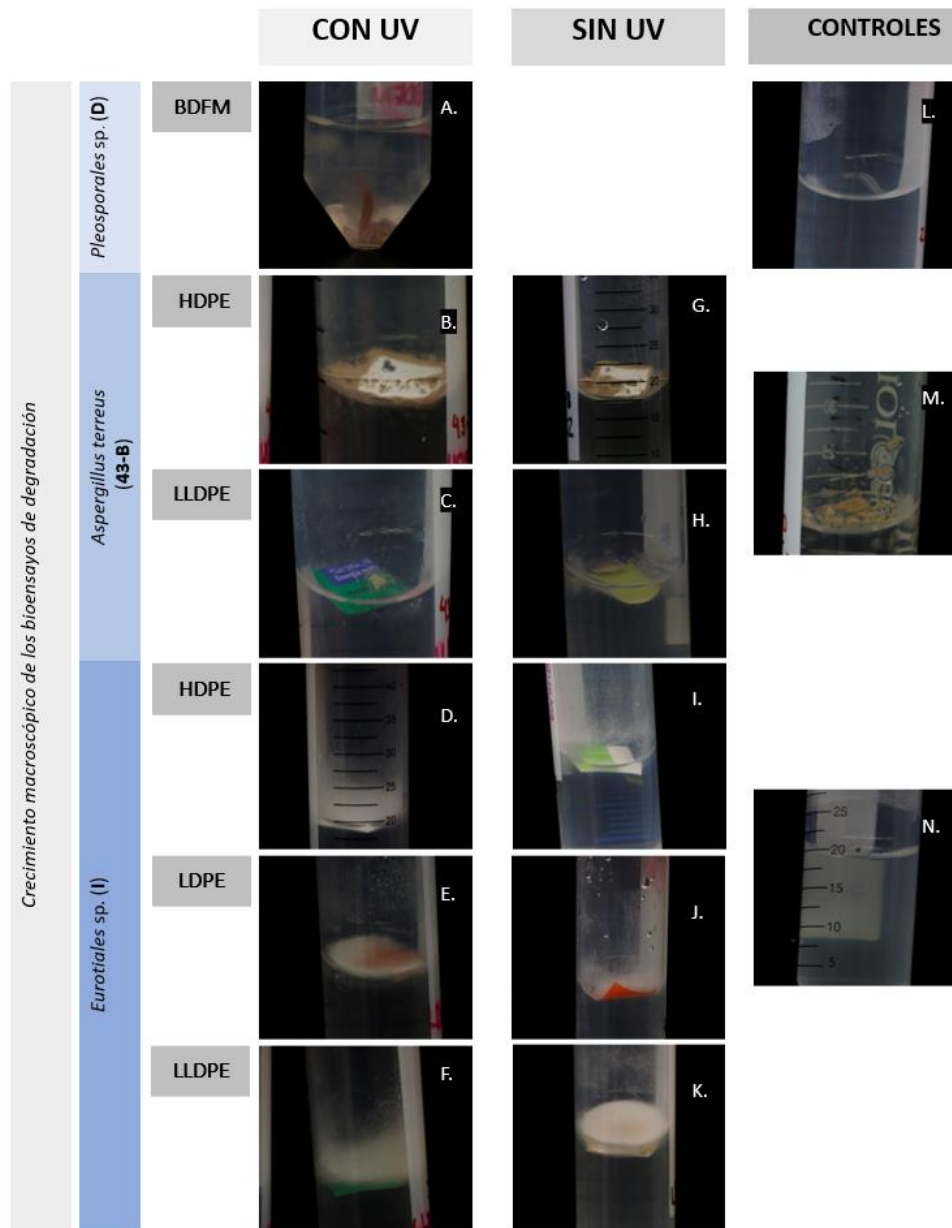


Figura 10. Crecimiento macroscópico de las colonias de *Pleosporales* sp., *Aspergillus terreus* y *Eurotiales* sp. en presencia de plásticos (HDPE, LDPE, LLDPE y BDFM) con y sin pretratamiento UV después de 15 días de incubación. Algunas muestras exhibieron una cierta flotabilidad debido a su densidad.

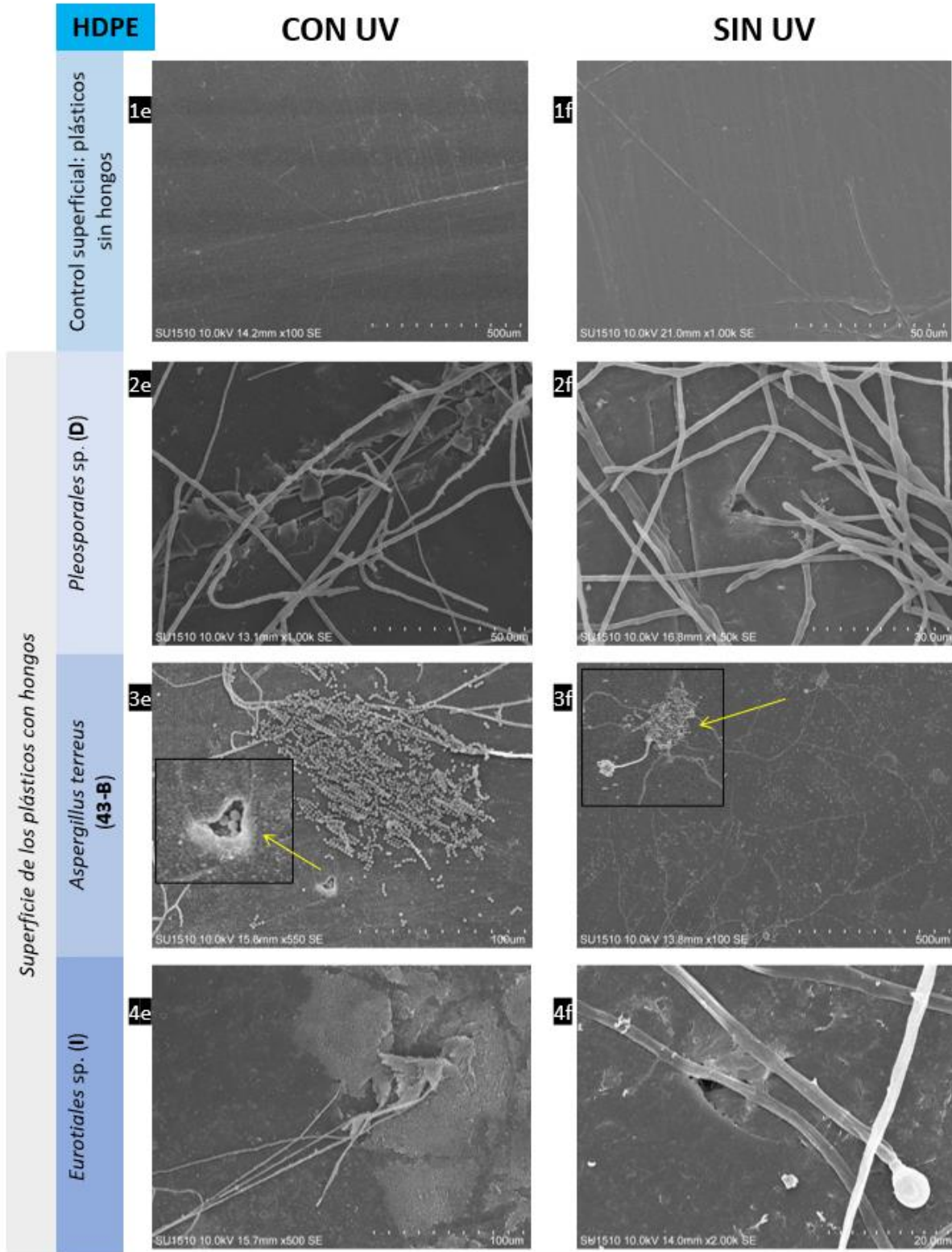
7.2.1 Micrografías obtenidas con microscopía electrónica de barrido en los bioensayos de degradación

De acuerdo con el análisis de microscopía SEM, encontramos una mayor erosión superficial en los plásticos controles irradiados con UV, cuya configuración estructural difería

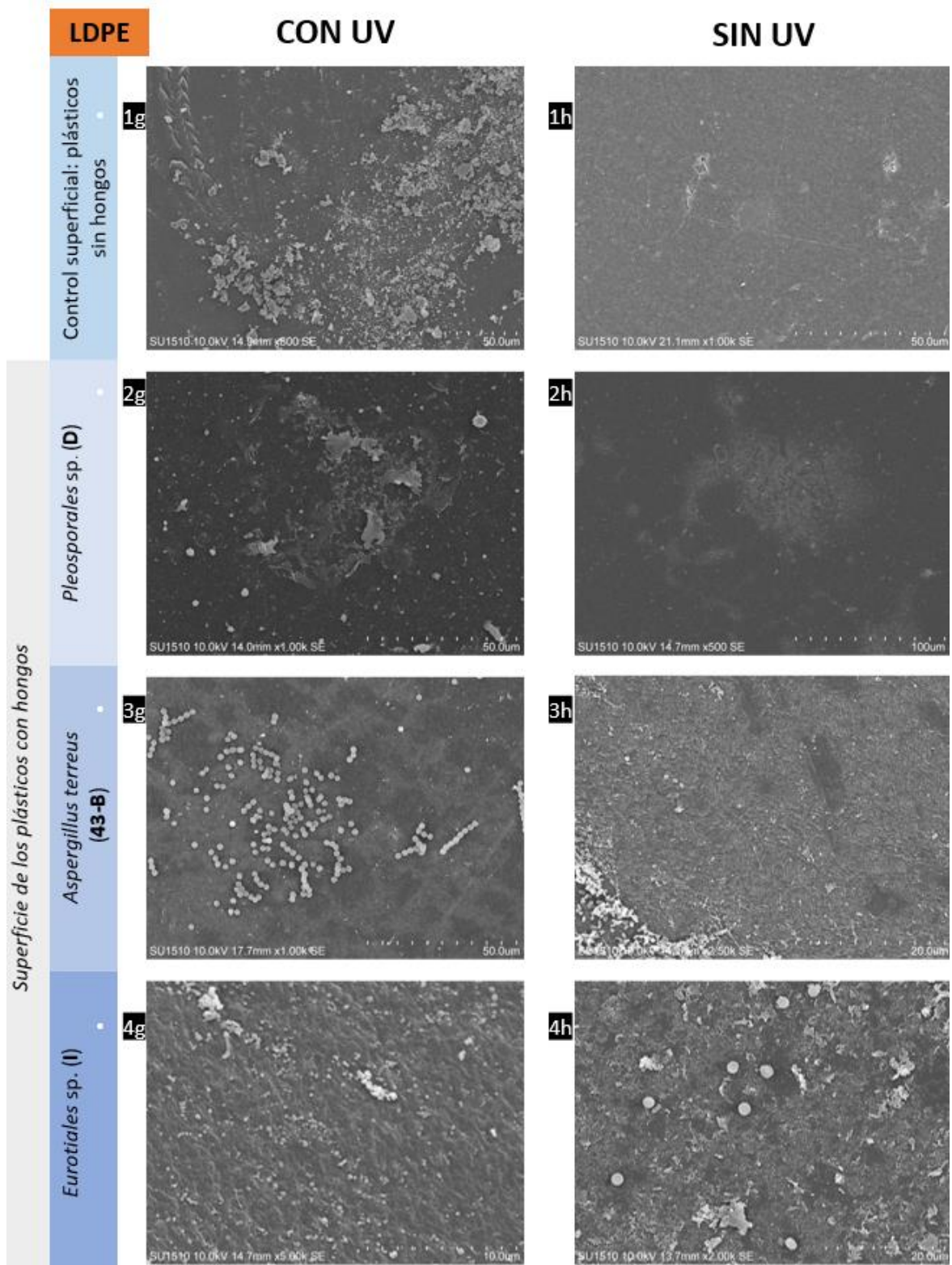
notablemente de sus contrapartes no irradiadas (p. ej., Figs. 11-1g y 11-1h). Esta erosión se presentó principalmente en forma de una mayor rugosidad e irregularidad superficial en los plásticos expuestos a luz UV, señales que interpretamos como evidencia de un deterioro temprano y cambio en las propiedades de los plásticos promovido por un factor abiótico.

Con relación a la colonización fúngica, esta se dio en todas las superficies plásticas, tanto las irradiadas como las no irradiadas con UV (Fig. 11, lámina 2), aunque de manera prácticamente nula y con la presencia de unas cuantas esporas en los sustratos irradiados y no irradiados de PE de baja densidad (LDPE) (p. ej., Figs. 11-2g y 11-2h). Asimismo, encontramos la presencia de diferentes morfotipos de hifas en interacción con la superficie inerte de los plásticos HDPE, LLDPE y BDFM, desde extensas redes filamentosas cubriendo total o parcialmente la superficie polimérica (p. ej., Figs. 11-4i, 11-4j, 11-4k y 11-4l), hasta hifas con patrones de ramificación casi nulos (p. ej., Fig. 11-4e) e incluso, hifas que presentaron ramas laterales cortas (p. ej., Figs. 11-2j y 11-3j). Adheridos a la matriz plástica también se encontraron conidios (Figs. 11-3g, 11-3h y Fig. 12), algunos de ellos en germinación. La figura 11-4f, por ejemplo, muestra el crecimiento de una hifa por extensión apical a partir de un conidio.

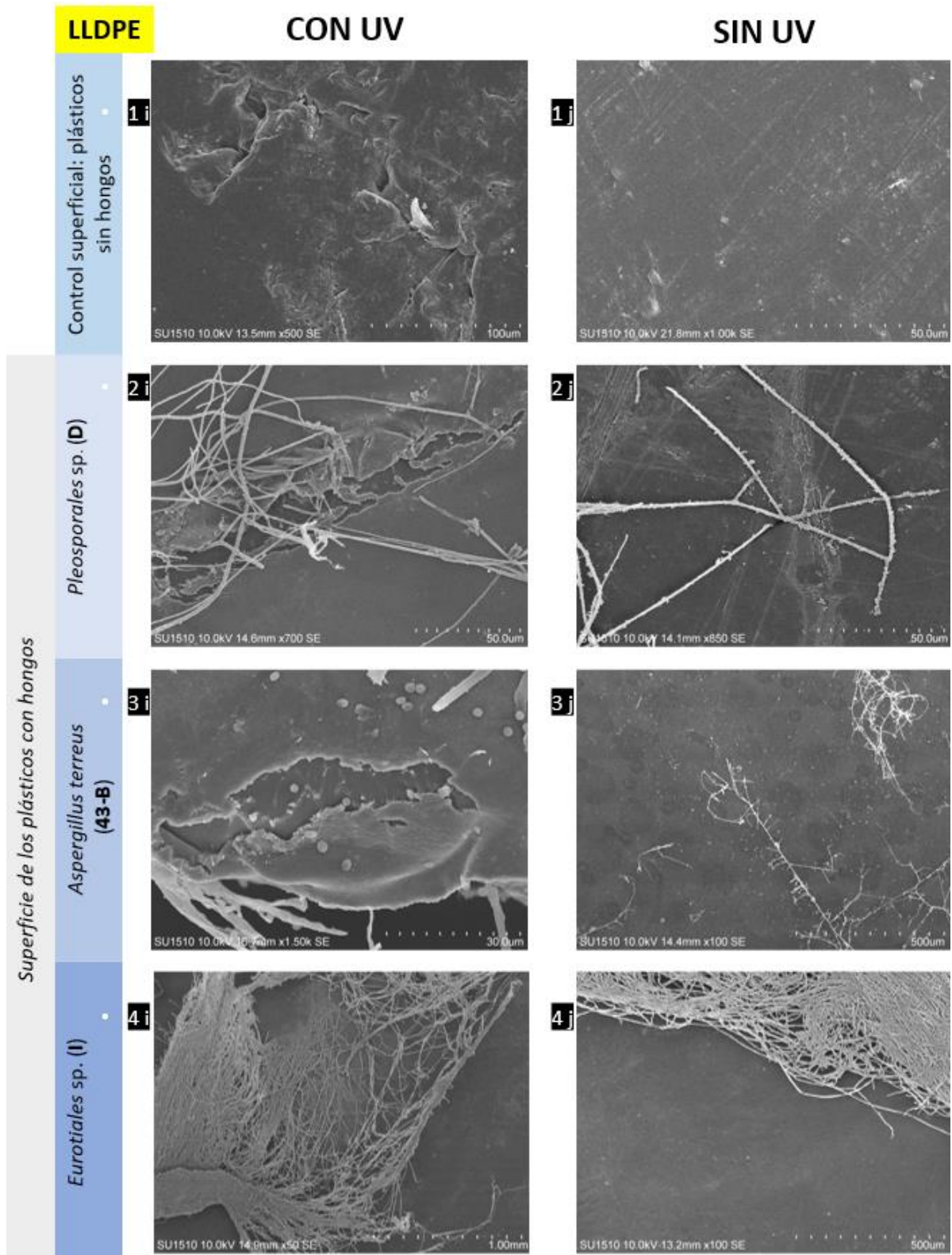
Se observó la intrusión de hifas (p. ej., Figs. 11-2e, 11-2f y 11-2i) y esporas (Figs. 11-3i y 11-3e) por parte del aislado *A. terreus* por debajo de las capas superficiales de plásticos de PE de alta densidad y lineal de baja densidad. La agregación y aglutinamiento de hifas que extendieron su margen de crecimiento por debajo de estas primeras capas provocó, en algunos casos, el levantamiento y desprendimiento de pequeños fragmentos superficiales, siendo que estas señales de biodeterioro fueron más evidentes en plásticos irradiados con UV (Figs. 11-2k y 11-3k). Los agregados de hifas más abundantes se registraron en los plásticos de LLDPE y BDFM. Estas señales de biodeterioro fueron más evidentes en plásticos irradiados con UV. A diferencia de los bioensayos de tolerancia, en donde *A. terreus* formó conidios y conidióforos en plásticos de LDPE y BDFM, este aislado solamente formó dichas estructuras en presencia de sustratos irradiados y no irradiados de HDPE cuando estos se utilizaron como única fuente de carbono (Fig. 11-3f; Fig. 12). En todos los casos se debe tomar en cuenta que la selección de imágenes, a pesar de diferir en escala, se hizo considerando la representatividad de las señales de biodeterioro y crecimiento fúngico buscadas.



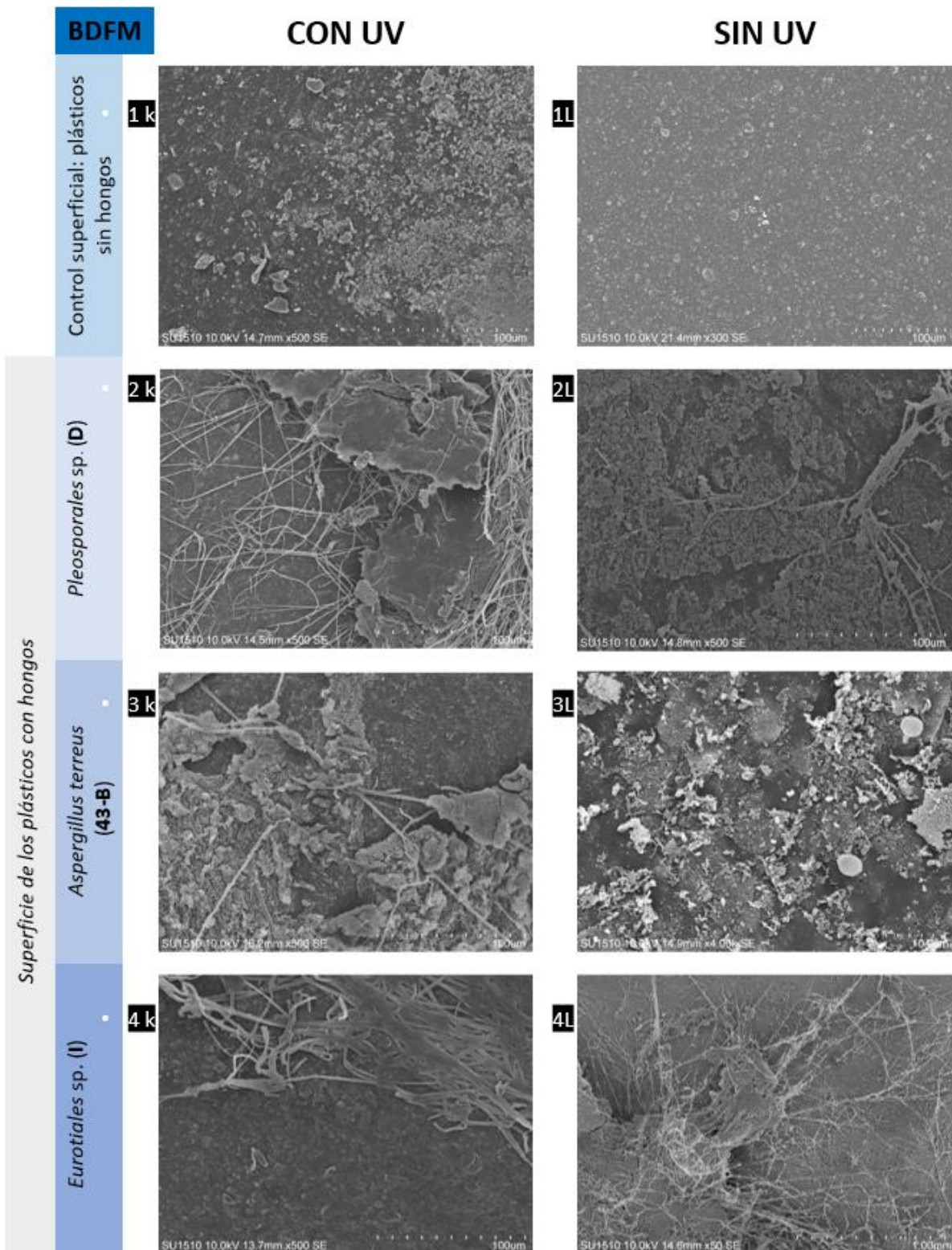
*Imagen 11, lámina 1.



*Imagen 11, lámina 2.



*Imagen 11, lámina 3.



*Imagen 11, lámina 4.

Figura 11. Micrografías de SEM de la superficie de plásticos BD y no BD después de 15 días de incubación en cultivos líquidos. Las imágenes 1e, 1f, 1g, 1h, 1i, 1j, 1k, y 1L corresponden a los

plásticos controles expuestos y no expuestos a UV. El resto de las imágenes muestran la superficie de plásticos con y sin pretratamiento UV inoculados con *Pleosporales* sp., *Aspergillus terreus* y *Eurotiales* sp. Las imágenes fueron seleccionadas de acuerdo con una cierta representatividad, por lo que su escala no es la misma en todos los casos.

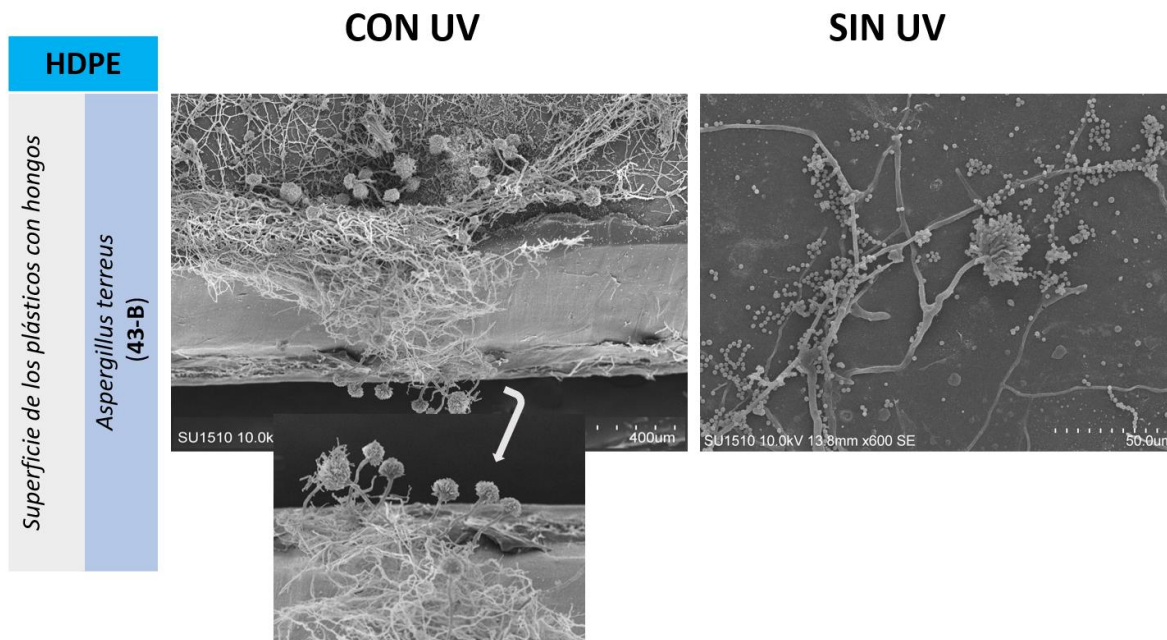


Figura 12. Conidióforos producidos por *Aspergillus terreus* sobre la superficie de plásticos HDPE con y sin pretratamiento UV (Imagen a y b).

7.2.2 Determinación de la pérdida de masa de las muestras plásticas y cuantificación de la biomasa fúngica

Se cuantificó la masa pérdida por cada una de las muestras plásticas expuestas y no expuestas a un pretratamiento UV después de un periodo de incubación de 15 días considerando dos de las tres réplicas experimentales. Aunque todos los sustratos mostraron una reducción en su masa, destaca que los plásticos irradiados exhibieron una mayor pérdida en su masa (Fig. 13). Algunas interacciones destacables en las cuales se registra dicho fenómeno, con diferencias significativas y los valores promedios más altos son:

- HDPE–UV en interacción con *Eurotiales* sp. (I) perdió un promedio de 0.02 g. 1*
- HDPE-UV en interacción con *A. terreus* (43-B) perdió un promedio de 0.01 g. 1*
- BDFM–UV en interacción con *A. terreus* (43-B) perdió un promedio de 0.0035 g. 1*

1* Incertidumbres asociadas incluidas en las gráficas de la Fig. 13.

En relación con los plásticos no irradiados, también es posible observar una pérdida significativa en su masa. Un ejemplo de ello es la interacción LDPE – no UV – I (Fig. 13b), en donde el sustrato no irradiado LDPE perdió una masa promedio de 0.003 gramos después de 15 días de incubación. De acuerdo con lo anterior, *A. terreus* y *Eurotiales* sp. promovieron una mayor pérdida de masa en los sustratos plásticos, principalmente en plásticos irradiados del tipo HDPE y BDFM.

En cuanto a la biomasa fúngica producida, considerada aquí como un reflejo directo del crecimiento fúngico, se observaron variaciones en el peso seco del micelio recuperado (Fig. 14). Contrario a lo esperado, las diferencias significativas indican que los valores más altos del peso seco del micelio recuperado se registraron para los sustratos que no recibieron un pretratamiento de exposición a radiación ultravioleta. Los aislados de la Cuenca de Pescadero (*Pleosporales* sp. y *A. terreus*) exhibieron un crecimiento similar, ya que ambos hongos registraron los mayores valores de biomasa sobre sustratos plásticos no irradiados en el orden siguiente: HDPE > LDPE. La condición experimental que favoreció la mayor cantidad de biomasa de entre todas fue la interacción de *Pleosporales* sp. (D) con el plástico HDPE- no UV (Fig. 14a), en cuyo caso el peso seco de la biomasa recuperada registra el valor más alto de 0.011 gramos. No obstante, aun cuando que encontramos la mayor cantidad de biomasa se produce sobre sustratos no irradiados, al momento de observar las micrografías SEM encontramos que la mayor complejidad y diversidad de estructuras fúngicas se encuentran sobre los sustratos que si recibieron dicho pretratamiento abiótico. El aislado de la Falla Transformante de Pescadero (*Eurotiales* sp.), mostro diferencias significativas únicamente en interacción con el sustrato LLDPE- no UV, registrando el segundo valor promedio más alto del peso seco del micelio, con 0.0055 gramos.

Finalmente, observamos una relación positiva entre la pérdida de masa de las muestras plásticas y la producción de biomasa fúngica, ya que, en algunos casos como la interacción *Aspergillus terreus* (43.B) – polietileno de alta densidad (HDPE), se observaron valores altos en el peso seco de la biomasa fúngica, así como una gran pérdida de masa plástica. Cabe resaltar que esto no ocurre siempre, ya que hay casos en los que, independientemente de la producción escasa o no de biomasa fúngica, ocurre una pérdida significativa de masa en los sustratos plásticos.

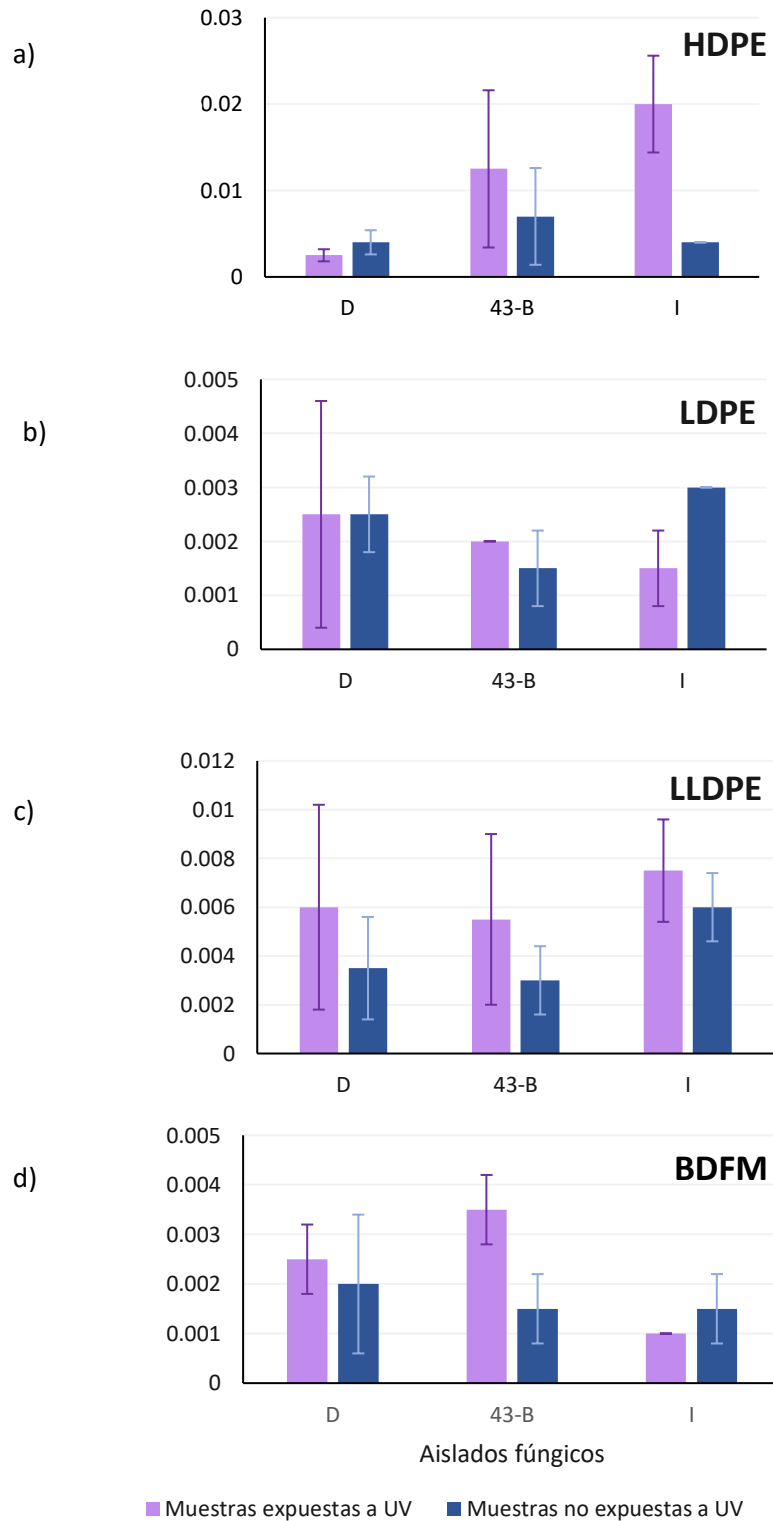


Figura 13. Pérdida de masa de plásticos después de 15 días de incubación con los aislados D (*Pleosporales* sp.), 43-B (*Aspergillus terreus*) e I (*Eurotiales* sp.). El eje “y” corresponde a la masa promedio perdida de las muestras plásticas en gramos y el eje “x” corresponde a los aislados fúngicos.

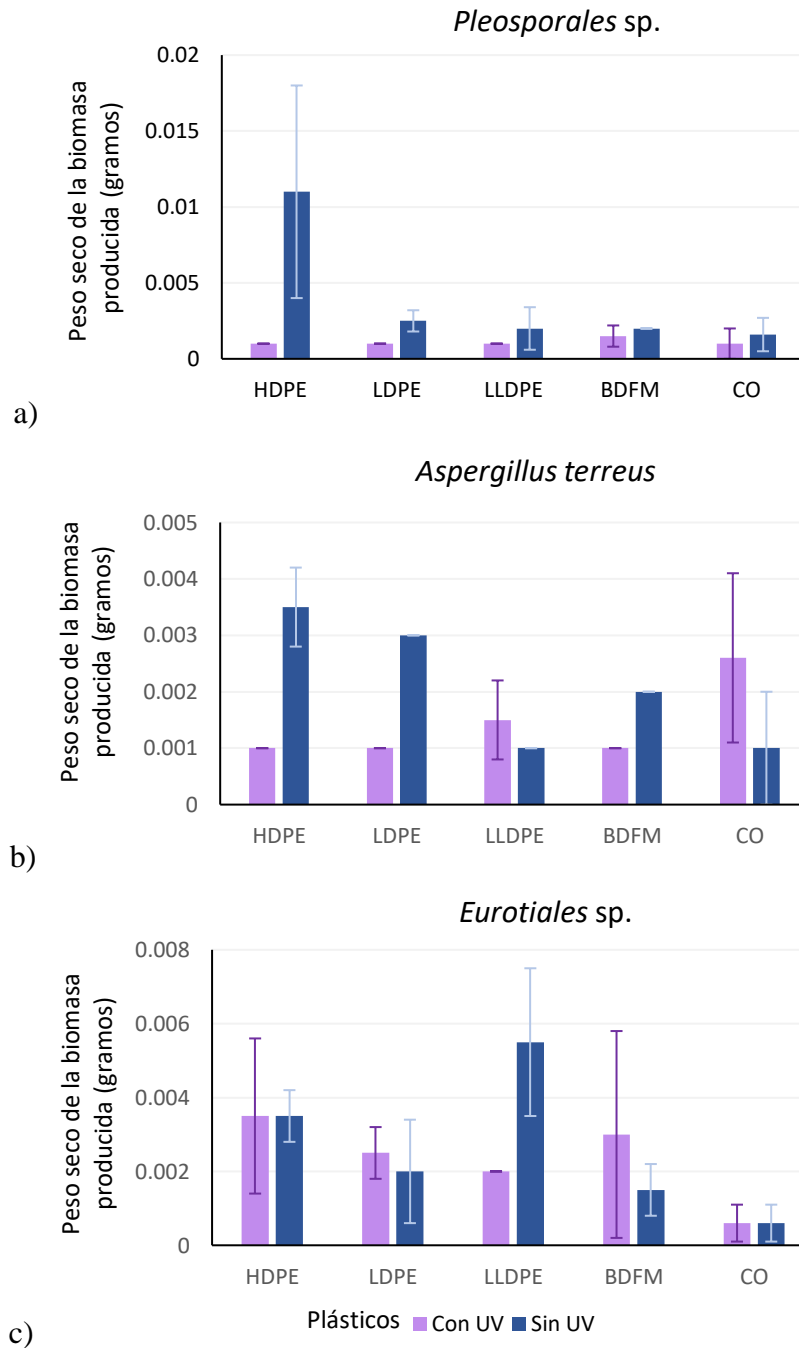


Figura 14. Representación de la biomasa fúngica producida después de 15 días de incubación. Las barras de error representan la desviación estándar de los datos. El eje “y” corresponde a la biomasa fúngica promedio producida en gramos y el eje “x” corresponde a los aislados fúngicos.

7.2.3 Análisis PERMANOVA

El uso de una prueba estadística como PERMANOVA permitió evaluar el efecto simultáneo de los siguientes tres factores 1) la exposición o no a un pretratamiento abiótico UV, 2) el

tipo de plástico empleado como sustrato y 3) la acción de tres aislados fúngicos, sobre dos variables: a) la masa promedio perdida de los distintos sustratos plásticos y b) la biomasa fúngica producida.

De acuerdo con el primer diseño PERMANOVA (Tabla 6) realizado con los datos de la masa promedio perdida de las muestras plásticas, los factores tratamiento ($p=0.026$) y plástico ($p=0.001$) mostraron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 8), contribuyendo a la variación de la masa que perdieron los plásticos después de ser sometidos a los bioensayos de degradación. Adicionalmente, la interacción plástico-aislado, también fue significativa ($p=0.044$). Los valores de significancia del análisis por pares que evaluó la contribución de cada nivel del factor “plástico” a la variación de la masa perdida plástica se resumen en la tabla 8.1. Cuatro niveles del factor mostraron valores de significancia ≤ 0.05 .

Tabla 8. Análisis de varianza PERMANOVA ($p \leq 0.05$) de la masa perdida en los plásticos. Los valores estadísticamente significativos se resaltan en cursivas.

| Factor | | MS | Pseudo-F | P |
|------------------------|---|-------------|-----------------|--------------|
| Tratamiento | 1 | 0.0017513 | 5.9553 | 0.026 |
| Plástico | 3 | 0.0046718 | 15.887 | 0.001 |
| Aislado | 2 | 0.000057295 | 1.9484 | 0.144 |
| Tratamiento x Plástico | 3 | 0.00064494 | 2.1932 | 0.116 |
| Tratamiento x Aislado | 6 | 0.00030594 | 1.0404 | 0.367 |
| Plástico x Aislado | 6 | 0.00082383 | 2.8015 | 0.044 |

Tabla 8.1 Análisis por pares (masa perdida en los plásticos).

| Grupos | t | P |
|---------------|----------|--------------|
| HDPE, LDPE | 4.9328 | 0.001 |
| HDPE, LLDPE | 1.5203 | 0.149 |
| HDPE, BDFM | 5.3334 | 0.001 |
| LDPE, LLDPE | 3.9311 | 0.005 |
| LDPE, BDFM | 0.52436 | 0.595 |
| LLDPE, BDFM | 4.4308 | 0.001 |

De acuerdo con el segundo diseño de PERMANOVA (tabla 7), los factores tratamiento ($p=0.001$) y plástico ($p=0.022$) también mostraron diferencias significativas, contribuyendo a la variación de la biomasa fúngica en los tres aislados (Tabla 9). Cabe resaltar que en este segundo análisis la interacción tratamiento-plástico fue significativa. En cuanto al análisis

por pares de la categoría plástico, los distintos tipos de polímeros mostraron valores de significancia, aun cuando tres de estos pertenecen a la misma categoría de plástico sintético (PE) (Tabla 9.1). En ambos análisis, los factores más importantes que explican la variación de las dos variables con las que cuantificamos la biodegradación (pérdida de masa y la biomasa fúngica) fueron el tratamiento y el tipo de plástico.

Tabla 9. Análisis de varianza PERMANOVA ($p \leq 0.05$) biomasa fúngica. Los valores estadísticamente significativos se resaltan en cursivas.

| Factor | df | MS | <i>Pseudo-F</i> | <i>P</i> |
|------------------------|-----------|-----------|------------------------|---------------------|
| Tratamiento | 1 | 1557.1 | 12.208 | <i>0.001</i> |
| Plástico | 4 | 406.04 | 3.1834 | <i>0.022</i> |
| Aislado | 2 | 248.81 | 1.9507 | 0.139 |
| Tratamiento x Plástico | 4 | 429.45 | 3.3669 | <i>0.02</i> |
| Tratamiento x Aislado | 8 | 394.5 | 3.093 | 0.057 |
| Plástico x Aislado | 8 | 261.62 | 2.0512 | 0.055 |

Tabla 9.1 Análisis por pares biomasa fúngica

| Grupos | t | P |
|----------------|----------|---------------------|
| HDPE, LDPE | 2.47 | <i>0.021</i> |
| HDPE, LLDPE | 2.4556 | <i>0.018</i> |
| HDPE, BDFM | 2.46 | <i>0.014</i> |
| HDPE, Control | 3.2203 | <i>0.004</i> |
| LDPE, LLDPE | 0.42136 | 0.754 |
| LDPE, BDFM | 0.52547 | 0.631 |
| LDPE, Control | 1.3876 | 0.198 |
| LLDPE, BDFM | 0.38676 | 0.756 |
| LLDPE, Control | 1.1147 | 0.287 |
| BDFM, Control | 0.76673 | 0.464 |

8. DISCUSIÓN

La contaminación plástica es ubicua en el sistema terrestre y constituye una preocupación ambiental debido a que los plásticos, también denominados “entidades nuevas” según el marco de los límites planetarios, constituyen sustancias químicas peligrosas que se acumulan y persisten en el ambiente, circulan a diferentes escalas, son resistentes a la degradación y ocasionan impactos negativos en todos los niveles de organización biológica, así como en procesos vitales del planeta, convirtiéndose en un marcador estratigráfico del Antropoceno (Rockström et al., 2009; Rochman et al., 2013; Corcoran et al., 2014; Reed, 2015; Steffen et al., 2015; Zalasiewicz et al., 2016; Villarrubia-Gómez et al., 2018; Haram et al., 2020; Persson et al., 2022). Desde 1950 se han producido cerca de 9,200 millones de toneladas de plásticos (Geyer et al., 2020), el equivalente a 1.15 millones de toneladas plásticas producidas, en promedio, por cada persona viva en la actualidad. La producción excesiva, la generación creciente de residuos y la gestión ineficiente de los residuos plásticos constituyen la base de la crisis de la contaminación plástica (Walker y Fequet 2023). Debido a lo anterior, resulta esencial considerar estrategias eficientes de eliminación de los residuos plásticos. Como parte de la exploración de recursos biológicos con el potencial degradar total o parcialmente plásticos de base fósil y biológica, la presente investigación hace un énfasis especial en la microbiota de sedimentos de ventilas hidrotermales en mares mexicanos profundos al sur del Golfo de California. Los resultados obtenidos constituyen el primer registro en su tipo, y resaltan la importancia de este grupo de microorganismos como potenciales agentes micodegradadores de plásticos.

En este estudio se demostró la capacidad de los micromicetes *Pleosporales* sp. y *A. terreus* de la cuenca de Pescadero (CP), así como *Eurotiales* sp., de la Falla Transformante de Pescadero (FTP), para crecer y desarrollarse en presencia de plásticos de polietileno con diferentes densidades de resina (HDPE, LDPE y LLDPE) y un plástico biodegradable (BDFM) (Fig. 6), así como para deteriorar y degradar dichos plásticos cuando estos fueron empleados como única fuente de carbono. Esta capacidad podría estar impulsada por la presencia de metano e hidrocarburos alifáticos de orden superior, principalmente alcanos y alquenos, en los sedimentos a partir de los cuales se recuperaron dichos aislados (Paduan et al., 2018; Apéndice 1). Se sabe que la exposición a estas condiciones fisicoquímicas constituye una presión de selección a largo plazo, en la cual, los organismos han desarrollado

una tolerancia relativamente alta a estos compuestos (Al-Nasrawi, 2012; Edgcomb et al., 2022), con mecanismos de eliminación y adaptaciones metabólicas ante la presencia de fuentes de petróleo y mezclas de hidrocarburos de origen natural en entornos marinos (Kvenvolden y Cooper, 2003; Kumar et al., 2011; Barnes et al., 2018). Las comunidades microbianas previamente expuestas a estas moléculas orgánicas exhiben altas tasas de degradación, así como “aclimatación cruzada”, mediante la cual, pueden metabolizar compuestos de estructuras similares a los hidrocarburos (Bauer y Capone, 1988; Leahy y Colwell, 1990; Jeon y Kim, 2015).

Previamente se ha demostrado el potencial de la microbiota hidrotermal para degradar hidrocarburos poliaromáticos (Edgcomb et al., 2022) y alifáticos como alcanos y alquenos (Olguin, 2022), siendo *Aspergillus* y *Penicillium* los géneros más reportados (Prenafeta-Boldú et al., 2018). Los hongos de ventilas hidrotermales también exhiben un metabolismo críptico, con un arsenal de moléculas bioactivas nuevas y potencialmente útiles en diversas áreas como la biomedicina y la biorremediación (Ding et al., 2016). Sin embargo, el estudio de la micodegradación de productos derivados de los hidrocarburos como los plásticos, es aún incipiente (Jacquin et al., 2019).

En los bioensayos de tolerancia, *Pleosporales* sp. y *A. terreus* de la Cuenca de Pescadero, registraron su mayor crecimiento sobre sustratos de polietileno de baja densidad (LDPE), con un tamaño de micelio de 606.8 y 923.9 mm², respectivamente, superando a los controles, de la misma manera, en un 7.46 y un 7.8%. Por su parte, *Eurotiales* sp. registró el valor más grande de crecimiento reportado en los bioensayos de tolerancia sobre sustratos biodegradables (BDFM) con un tamaño de micelio de 3400.8 mm², seguido de los sustratos de polietileno de alta densidad (HDPE), con un tamaño de micelio de 2405.3 mm². De manera general, los micromicetes exhibieron una preferencia por los plásticos de PE, particularmente del tipo LDPE y HDPE (Figura 6). Algunos estudios sugieren una mayor eficiencia de la degradación de los plásticos de HDPE respecto a los del tipo LDPE debido, principalmente, a las diferencias de densidad y al grado de ramificación en su estructura química (Skariyachan et al., 2017).

De los diecinueve phyla de hongos conocidos, Chytridiomycota, Rozellomycota, Glomeromycota, Aphelidiomycota, Blastocladiomycota y Zoopagomycota se asocian

recurrentemente con los residuos plásticos, y son considerados colonizadores oportunistas que no necesariamente degradan los plásticos, mientras que Ascomycota, Basidiomycota y Mucoromycota constituyen tres phyla ampliamente descritos como micodegradadores de plásticos (Oberbeckmann et al., 2016; De Tender et al., 2017; Kettner et al., 2017; Lacerda et al., 2020; Zeghal et al., 2021; Zimmermann, 2021; Ekanayaka et al., 2022). El Phylum Ascomycota concentra los principales géneros de hongos degradadores de plásticos, incluyendo *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* y *Fusarium* (Ghatge et al., 2020; Zeghal et al., 2021). A su vez, *Aspergillus* exhibe una cierta especificidad de sustrato, principalmente en plásticos de polietileno (Ghatge et al., 2020; Lacerda et al., 2020; Zeghal et al., 2021).

En los bioensayos de degradación, todos los plásticos mostraron una reducción en su masa, principalmente los sustratos pretratados con radiación ultravioleta (UV). El análisis de la pérdida de masa es la forma más sencilla y directa de cuantificar el grado de degradación de los plásticos (Chamas et al., 2020). Después de 15 días, *A. terreus* y *Eurotiales* sp. promovieron la mayor pérdida de masa plástica, principalmente en sustratos de polietileno de alta densidad irradiado (HDPE-UV), con una reducción promedio del 7.7% (0.012 gramos) y el 12% (0.02 gramos), respectivamente. En estudios previos, aislados identificados como *A. terreus* provenientes de manglares (Ameen et al., 2015) y agua marina (Alshehrei, 2017) del Mar Rojo, así como de la rizosfera de manglares en la India (Sangale et al., 2019), han demostrado una capacidad destacable para reducir la masa de plásticos de polietileno hasta en un 41.82% (Sangale et al., 2019). No obstante, nuestros resultados constituyen el primer registro de un aislado de *A. terreus* proveniente de ventilas hidrotermales con el potencial de degradar plásticos de polietileno (PE).

El PE es un polímero sintético elaborado a partir de la polimerización del etileno, cuyo principal precursor es el etano (Zimmermann, 2021). Este último compuesto se encuentra presente en la Cuenca de Pescadero (Apéndice 1), por lo que aislados provenientes de este sitio, tal y como se demostró con *A. terreus*, podrían exhibir una habilidad notable para reducir el peso de compuestos derivados de este hidrocarburo alifático como los plásticos de polietileno de alta densidad. Este hallazgo resulta favorable en el contexto de la contaminación por plásticos, ya que el polietileno constituye el residuo más abundante (Auta et al., 2017), con una alta resistencia a la degradación debido a su alto peso molecular, hidrofobicidad y ausencia de grupos funcionales susceptibles al ataque de enzimas

microbianas (Chamas et al., 2020). Por otro lado, se debe considerar que, a pesar de pertenecer a la misma categoría, los distintos tipos de plásticos de PE se degradan de manera diferente (Fontanella et al., 2010).

La mayor pérdida de masa en sustratos plásticos irradiados con UV (Figura 13) sugiere la importancia de este pretratamiento abiótico, considerado el mecanismo más importante de degradación ambiental (Masry et al., 2021). En condiciones experimentales, dicho pretratamiento simula la exposición natural de los residuos plásticos a la luz solar cuando estos se depositan en el ambiente. Sin embargo, un estudio realizado por Doğan (2021), reveló una mayor eficiencia de la degradación por efecto de la luz ultravioleta artificial respecto a la luz solar. Trabajos previos han demostrado que la fotooxidación impulsada por la luz ultravioleta es el mecanismo más importante que afecta el peso molecular de los plásticos, ya que desencadena reacciones que escinden la cadena polimérica (Fontanella et al., 2010; Gewert et al., 2015). Una vez reducido el tamaño de la molécula, los procesos de oxidación impulsan la metabolización microbiana de los plásticos a través de la beta-oxidación, el ciclo de Krebs o el ciclo del ácido tricarboxílico (TCA) (Albertsson et al., 1987; Restrepo-Flórez et al., 2014). Esta oxidación comienza en la superficie y alcanza capas más profundas con la exposición continua, generando radicales libres de oxígeno dentro de la estructura polimérica del plástico que pueden formar compuestos de cadena más corta, así como grupos funcionales (cetonas, aldehídos, alcoholes, ácido carboxílico, cetoácidos y ésteres) que participan en las vías de despolimerización, (Lee et al., 1991; Ghosh et al., 2013; Gewert et al., 2015; Gewert et al., 2018; Erdmann et al., 2020).

Las reacciones generadas en los plásticos por efecto de la exposición a radiación UV provocan su rápida meteorización, debilitando y haciendo frágil la estructura del polímero (Andrady et al., 2022). Este contraste pudimos observarlo en las micrografías de los plásticos controles irradiados con UV (Figura 11), que exhibieron una mayor alteración en su topografía superficial respecto a los sustratos no pretratados. Los controles plásticos LDPE y BDFM pretratados mostraron el mayor biodeterioro (Figs. 11-1g, 11-1h, 11-1k y 11-1L). Los plásticos en tratamiento también exhibieron cambios morfológicos en su superficie incluyendo rasgaduras, grietas, perforaciones, una mayor rugosidad y el desprendimiento superficial de fragmentos plásticos pequeños. Estas señales son comúnmente reportadas en la literatura (Taghavi et al., 2021). Un registro similar ha sido reportado en muestras de

polipropileno pretratadas con UV inoculadas con *A. terreus* (Samat y Abbas, 2023), y la mayoría de los trabajos publicados sobre *Aspergillus* spp. sugieren la implementación de un pretratamiento con UV para modificar las propiedades de los polímeros (p. ej., cristalinidad, densidad, hidrofobicidad, etc.) (Balasubramanian et al., 2014).

Contrario a lo esperado, los valores más altos del peso del micelio seco recuperado, es decir, la mayor cantidad de biomasa fúngica se produjo sobre sustratos que no recibieron un pretratamiento de exposición a radiación ultravioleta (Figura 14), aun cuando estos tendieron a perder más masa (sección 7.2.2). A pesar de que en la literatura se ha comprobado en múltiples ocasiones una mayor producción de biomasa fúngica en muestras plásticas pretratadas con UV (Gu, 2003; Samat y Abbas, 2023), nuestros resultados son un reflejo de la habilidad de los micromicetes estudiados para crecer en materiales que no han sido expuestos a ningún pretratamiento. Solo en algunos casos se ha observado el crecimiento y la formación de complejas biopelículas fúngicas sobre HDPE sin ningún pretratamiento empleando a los hongos marinos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus tubingensis* (Devi et al., 2015).

Pleosporales sp. y *A. terreus* desarrollaron la mayor cantidad de biomasa sobre sustratos de polietileno de alta densidad no irradiados (HDPE-noUV), con un promedio de 0.011 y 0.0035 gramos, en cada caso, seguido del crecimiento en sustratos de polietileno de baja densidad no irradiados (LDPE-noUV), con un promedio de 0.0025 y 0.003 gramos, respectivamente. Ambas condiciones superaron el tamaño de los controles fúngicos. Esto es congruente con el crecimiento mejorado reportado de los hongos cuando estos se encuentran en medios suplementados con plásticos como única fuente de carbono (Gaon et al., 2022). A diferencia de los bioensayos de tolerancia, el crecimiento fúngico se cuantificó considerando el peso seco de la biomasa fúngica producida, y no el tamaño del micelio.

A nivel macroscópico observamos micelios con tamaños diferentes y márgenes irregulares (Figura 7 y Figura 10). Estos sutiles cambios en la forma del micelio podrían deberse a que los hongos perciben un cambio en las condiciones de su entorno y modifican su dinámica de crecimiento, alterando así la forma de la red fúngica (De Ulzurrun et al., 2017). Con relación a las estructuras fúngicas observadas en las micrografías, observamos tres principales: conidios, conidióforos e hifas (Figs. 9, 10, 11 y 12). Esta última estructura confiere a los

hongos un modo de crecimiento vegetativo muy eficaz ya que permite la traslocación interna de nutrientes y la exploración de sustratos sólidos sin necesidad de una fase líquida (Prenafeta-Boldú et al., 2018).

A nivel microscópico, las micrografías SEM mostraron que la complejidad del micelio fúngico no está estrictamente relacionada con la cantidad de biomasa que se produce. Esto es particularmente relevante para *A. terreus*, que a pesar de exhibir un desarrollo macroscópico escaso (Figs. 10-B y 10-G), fue el único aislado que formó exitosamente estructuras de reproducción asexual (conidios), así como hifas con diferentes morfologías. Este registro no se había reportado antes para hongos marinos provenientes de ventilas, pero sí para aislados de *A. terreus* provenientes de manglares (Sáenz et al., 2019). Aunado a ello, *A. terreus* mostró una mayor afinidad con los sustratos de mayor densidad (HDPE), tanto irradiados como no irradiados. En contraparte, *Eurotiales* sp. (proveniente de la FTP) formó los micelios más abundantes y extensos, pero la complejidad de su desarrollo se limitó sólo a la formación de redes de hifas que crecieron superficialmente, con preferencias por los sustratos LLDPE y HDPE. En concordancia con los resultados anteriores, se sabe que la clase Eurotiomycetes, y el orden Eurotiales, agrupan a los principales degradadores de plásticos (*Aspergillus* y *Penicillium*) de polietileno de alta y baja densidad, cloruro de polivinilo, poliestireno y poliuretano (Ekanayaka et al., 2022).

El único plástico en el cual no crecieron hifas fue en los sustratos de LDPE, tanto irradiado como no irradiado. Este resultado es diferente al reportado por otros autores, quienes han observado la habilidad de *A. terreus*, *A. niger*, *A. flavus* y *A. fumigatus* para degradar crecer en películas de LDPE y degradarlas en condiciones mínimas de nutrientes (Alshehrei, 2017; Sáenz et al., 2019). Esto podría deberse a que el LDPE presenta un elevado grado de ramificaciones, y a que el crecimiento fúngico en este sustrato representa un costo energético elevado, sobre todo considerando que los hongos de ambientes extremos como las ventilas exhiben un crecimiento lento, debido en parte a que desvían grandes cantidades de energía hacia mecanismos que permiten la supervivencia en condiciones hostiles, el bajo contenido de nutrientes en el sistema, los requerimientos energéticos empleados en adaptaciones extremotolerantes y morfología compleja (Gostinčar et al., 2015; Gostinčar et al., 2022).

Por otra parte, las señales de biodeterioro superficial observadas en las micrografías sugiere un efecto combinado del pretratamiento con UV y la acción de los micromicetes en donde las capas superficiales, al permanecer expuestas constantemente, representan un sustrato disponible para el ataque químico o enzimático, generando pequeños fragmentos plásticos que son propensos a degradarse más rápido debido a que poseen una mayor relación superficie-volumen, y una estructura más frágil (Gewert et al., 2015), como lo observado en la interacción del plástico HDPE con *Pleosporales* sp. (Fig. 11-2e).

El potencial de penetración de las estructuras fúngicas (Fig. 11-2f) es facilitado por la producción de polisacáridos y polímeros extracelulares que contribuyen a la colonización, así como por la producción de enzimas lacasas, peroxidasas de manganeso y lignina peroxidasas, que rompen la cadena del polímero en monómeros, o bien, por las adhesinas, que favorecen la adherencia fúngica en diferentes superficies (Tronchin et al., 2008). Las hidrofobinas son otro grupo importante de proteínas que favorecen la unión de las hifas a superficies hidrofóbicas (Zimmermann, 2021).

Las observaciones anteriores son congruentes con los resultados del análisis PERMANOVA, el cual sugiere que la degradación de plásticos de base fósil y base biológica, a través de la cuantificación de dos variables, es decir, la masa plástica perdida (Figura 13) y la biomasa fúngica producida (Figura 14), está influenciada por dos de los tres factores analizados: la exposición a un pretratamiento abiótico y el tipo de sustrato sobre el cuál han sido inoculados los micromicetes (Tabla 8 y Tabla 9). Por lo tanto, las variaciones en la masa plástica perdida y la biomasa fúngica pueden explicarse a partir de la contribución de estos dos factores.

En cuanto a la biomasa fúngica producida, las variaciones en la producción de micelio están influenciadas fuertemente por el tipo de plástico sobre el cuál crecen los hongos. A pesar de que las resinas plásticas de polietileno pertenecen a la misma categoría, promueven un crecimiento diferencial de los hongos cuando estas son empleadas como única fuente de carbono, siendo el sustrato HDPE el que más favorece la producción de biomasa. De acuerdo con nuestro análisis de PERMANOVA, la interacción de los factores “tratamiento-plástico” fue significativa. Esto podría explicar las diferencias en la producción de biomasa no sólo en términos del tipo de plástico, si no también, de si este recibió o no radiación UV, en donde los sustratos no irradiados, presentaron la mayor complejidad de estructuras fúngicas

producidas. Finalmente, la masa plástica perdida, también está influenciada por la interacción de los factores “tratamiento-plástico”. A diferencia de la biomasa fúngica producida, los sustratos irradiados favorecieron la mayor cantidad de masa plástica perdida.

Cabe destacar que en todos los bioensayos empleamos el enfoque de monocultivos “un aislado – un plástico” a partir de cepas puras provenientes una colección. La realidad es que ninguna especie puede expresar toda la gama de enzimas necesarias para degradar y mineralizar sustratos complejos eficientemente (Jobard et al., 2010), por lo que se ha sugerido el uso de consorcios microbianos que incluyan la participación sinérgica de dos o más microorganismos en un intento por mejorar las tasas de biodegradación (Restrepo-Flores et al., 2014).

10. CONCLUSIONES

Los micromicetes analizados en esta investigación crecieron en presencia de plásticos de polietileno y de base biológica, mostrando una capacidad destacable para tolerar, deteriorar y degradar estos sustratos cuando fueron empleados como única fuente de carbono. La biomasa fúngica producida y la masa plástica que perdió cada sustrato, constituyeron los principales criterios para evaluar la degradación. Los polímeros de polietileno pretratados perdieron la mayor cantidad de masa plástica, mientras que el grupo de plásticos de polietileno no irradiados promovieron la mayor cantidad de biomasa fúngica. De acuerdo con un análisis de PERMANOVA, ambas variables parecen estar fuertemente influenciadas por el factor tratamiento, que incluye o no la exposición de los plásticos a radiación ultravioleta, y el factor plástico, que agrupa 3 plásticos de polietileno (HDPE, LDPE y LLDPE) y un plástico biodegradable (BDFM).

A. terreus fue el único micromicete que desarrolló estructuras de reproducción asexual y promovió la mayor pérdida de masa plástica, principalmente en sustratos de HDPE irradiados, mientras que *Eurotiales* sp. presentó los mayores valores de crecimiento fúngico, tanto en los bioensayos de tolerancia como en los de degradación.

Estos hallazgos constituyen un precedente importante para el estudio de las capacidades biosintéticas, poco exploradas, de micromicetes provenientes de ambientes extremos como las ventilas hidrotermales. Nuestros resultados constituyen el primer registro para la

microbiota hidrotermal, y destacan a este grupo como potenciales micodegradadores de plásticos.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albertsson, A. C., Andersson, S. O., & Karlsson, S. (1987). The mechanism of biodegradation of polyethylene. *Polymer degradation and stability*, 18(1), 73-87.
- Alimi, O. S., Farner Budarz, J., Hernandez, L. M., & Tufenkji, N. (2018). Microplastics and nanoplastics in aquatic environments: aggregation, deposition, and enhanced contaminant transport. *Environmental science & technology*, 52(4), 1704-1724.
- Al-Nasrawi, H. (2012). Biodegradation of crude oil by fungi isolated from Gulf of Mexico. *J Bioremed Biodegrad*, 3(4), 147-52.
- Alshehrei, F. (2017). Biodegradation of low-density polyethylene by fungi isolated from Red sea water. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(8), 1703-9.
- Alt, J. C. (1995). Subseafloor processes in mid-ocean ridge hydrothermal systems. *Washington DC American Geophysical Union Geophysical Monograph Series*, 91, 85-114.
- Álvarez-Borrego, S. (1983). Gulf of California. Estuaries and enclosed seas. Elsevier Sci. Publ. Co. 427-449.
- Amaral-Zettler, L. A., Zettler, E. R., & Mincer, T. J. (2020). Ecology of the plastisphere. *Nature Reviews Microbiology*, 18(3), 139-151.
- Ameen, F., Moslem, M., Hadi, S., & Al-Sabri, A. E. (2015). Biodegradation of Low-Density Polyethylene (LDPE) by Mangrove fungi from the red sea coast. *Progress in Rubber Plastics and Recycling Technology*, 31(2), 125-143.
- Amend, A., Burgaud, G., Cunliffe, M., Edgcomb, V. P., Ettinger, C. L., Gutiérrez, M. H., ... & Kagami, M. (2019). Fungi in the marine environment: Open questions and unsolved problems. *MBio*, 10(2).
- Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral ecology*, 26(1), 32-46.
- Anderson, M. J. (2005). Permutational multivariate analysis of variance. *Department of Statistics, University of Auckland, Auckland*, 26, 32-46.
- Anderson, M. J. (2014). Permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA). *Wiley statsref: statistics reference online*, 1-15.

- Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine pollution bulletin*, 62(8), 1596-1605.
- Andrady, A. L., Barnes, P. W., Bornman, J. F., Gouin, T., Madronich, S., White, C. C., ... & Jansen, M. A. K. (2022). Oxidation and fragmentation of plastics in a changing environment; from UV-radiation to biological degradation. *Science of The Total Environment*, 158022.
- Appels, F. V., Dijksterhuis, J., Lukasiewicz, C. E., Jansen, K., Wösten, H. A., & Krijgheld, P. (2018). Hydrophobin gene deletion and environmental growth conditions impact mechanical properties of mycelium by affecting the density of the material. *Scientific reports*, 8(1), 1-7.
- Aragón-Arreola, M., Morandi, M., Martín-Barajas, A., Delgado-Argote, L., & González-Fernández, A. (2005). Structure of the rift basins in the central Gulf of California: Kinematic implications for oblique rifting. *Tectonophysics*, 409(1-4), 19-38.
- Auta, H. S., Emenike, C. U., & Fauziah, S. H. (2017). Distribution and importance of microplastics in the marine environment: a review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environment international*, 102, 165-176.
- Bailes, G., Lind, M., Ely, A., Powell, M., Moore-Kucera, J., Miles, C., ... & Brodhagen, M. (2013). Isolation of native soil microorganisms with potential for breaking down biodegradable plastic mulch films used in agriculture. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (75).
- Baker, E. T., & German, C. R. (2004). On the global distribution of hydrothermal vent fields. *Mid-Ocean Ridges: Hydrothermal Interactions Between the Lithosphere and Oceans*, Geophys. Monogr. Ser, 148, 245-266.
- Balasubramanian, V., Natarajan, K., Rajeshkannan, V., & Perumal, P. (2014). Enhancement of in vitro high-density polyethylene (HDPE) degradation by physical, chemical, and biological treatments. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 12549-12562.
- Bánki, O., Roskov, Y., Döring, M., Ower, G., Vandepitte, L., Hobern, D., Remsen, D., Schalk, P., DeWalt, R. E., Keping, M., Miller, J., Orrell, T., Aalbu, R., Adlard, R., Adriaenssens, E. M., Aedo, C., Aesch, E., Akkari, N., Alexander, S., et al. (2022). Catalogue of Life Checklist (Version 2022-12-19). Catalogue of Life. <https://doi.org/10.48580/dfqt>.
- Barnes, D. K., Galgani, F., Thompson, R. C., & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical transactions of the royal society B: biological sciences*, 364(1526), 1985-1998.

- Barnes, N. M., Khodse, V. B., Lotlikar, N. P., Meena, R. M., & Damare, S. R. (2018). Bioremediation potential of hydrocarbon-utilizing fungi from select marine niches of India. *3 Biotech*, *8*, 1-10.
- Bass, D., Howe, A., Brown, N., Barton, H., Demidova, M., Michelle, H., ... & Richards, T. A. (2007). Yeast forms dominate fungal diversity in the deep oceans. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *274*(1629), 3069-3077.
- Bauer, J. E., & Capone, D. G. (1988). Effects of co-occurring aromatic hydrocarbons on degradation of individual polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediment slurries. *Applied and Environmental Microbiology*, *54*(7), 1649-1655.
- Beaulieu, S. E. (2010). InterRidge global database of active submarine hydrothermal vent fields: prepared for InterRidge, Version 2.0. <http://www.Interridge.Org/irvents>.
- Beaulieu, S. E., Baker, E. T., & German, C. R. (2015). Where are the undiscovered hydrothermal vents on oceanic spreading ridges? *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, *121*, 202-212.
- Beaulieu, S. E., Baker, E. T., German, C. R., & Maffei, A. (2013). An authoritative global database for active submarine hydrothermal vent fields. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, *14*(11), 4892–4905. <https://doi.org/10.1002/2013GC004998>.
- Beaulieu, Stace E & Szafranski, Kamil M (2020): InterRidge Global Database of Active Submarine Hydrothermal Vent Fields Version 3.4. PANGAEA, <https://doi.org/10.1594/PANGAEA.917894>.
- Bhagwat, G., O'Connor, W., Grainge, I., & Palanisami, T. (2021). Understanding the fundamental basis for biofilm formation on plastic surfaces: role of conditioning films. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 1615.
- Bhanot, V., Pareek, V., Fadanavis, S. V., & Panwar, J. (2020). Myco-degradation of plastics. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 25-34). Elsevier.
- Bittner, G. D., Denison, M. S., Yang, C. Z., Stoner, M. A., & He, G. (2014). Chemicals having estrogenic activity can be released from some bisphenol a-free, hard and clear, thermoplastic resins. *Environmental Health*, *13*(1), 1-18.
- Blackwell, M. (2011). The Fungi: 1, 2, 3... 5.1 million species? *American journal of botany*, *98*(3), 426-438.
- Bochdansky, A. B., Clouse, M. A., & Herndl, G. J. (2017). Eukaryotic microbes, principally fungi and labyrinthulomycetes, dominate biomass on bathypelagic marine snow. *The ISME journal*, *11*(2), 362-373.

- Burgaud, G., Arzur, D., Durand, L., Cambon-Bonavita, M. A., & Barbier, G. (2010). Marine culturable yeasts in deep-sea hydrothermal vents: species richness and association with fauna. *FEMS microbiology ecology*, 73(1), 121-133.
- Burgaud, G., Arzur, D., Sampaio, J. P., & Barbier, G. (2011). *Candida oceani* sp. nov., a novel yeast isolated from a Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent (– 2300 meters). *Antonie Van Leeuwenhoek*, 100, 75-82.
- Burgaud, G., Coton, M., Jacques, N., Debaets, S., Maciel, N. O., Rosa, C. A., ... & Casaregola, S. (2016). *Yamadazyma barbieri* fa sp. nov., an ascomycetous anamorphic yeast isolated from a Mid-Atlantic Ridge hydrothermal site (– 2300 m) and marine coastal waters. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(9), 3600-3606.
- Burgaud, G., Le Calvez, T., Arzur, D., Vandenkoornhuyse, P., & Barbier, G. (2009). Diversity of culturable marine filamentous fungi from deep-sea hydrothermal vents. *Environmental Microbiology*, 11(6), 1588-1600.
- Carmen, S. (2020). Microbial capability for the degradation of chemical additives present in petroleum-based plastic products: A review on current status and perspectives. *Journal of Hazardous Materials*, 123534.
- Carreira, C., Lønborg, C., Kühn, M., Lillebø, A. I., Sandaa, R. A., Villanueva, L., & Cruz, S. (2020). Fungi and viruses as important players in microbial mats. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(11), fiae187.
- Chamas, A., Moon, H., Zheng, J., Qiu, Y., Tabassum, T., Jang, J. H., ... & Suh, S. (2020). Degradation rates of plastics in the environment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(9), 3494-3511.
- Chanda, M., & Roy, S. K. (2008). *Plastics fundamentals, properties, and testing*. CRC press.
- Clague, D. A., Caress, D. W., Dreyer, B. M., Lundsten, L., Paduan, J. B., Portner, R. A., ... & Zierenberg, R. A. (2018). Geology of the Alarcon Rise, Southern Gulf of California. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 19(3), 807-837.
- Conlon, K. (2020). Adaptive injustice: Responsibility to act in the plastics economy. *Planning*, 2, 1-2020.
- Corcoran, P. L., Moore, C. J., & Jazvac, K. (2014). An anthropogenic marker horizon in the future rock record. *GSA today*, 24(6), 4-8.
- Corliss, J. B., and Ballard, R. D. (1977). Oases of life in the cold abyss. *National Geographic Magazine* 152,441-453.
- Corliss, J. B., Dymond, J., Gordon, L. I., Edmond, J. M., con Herzen, R. P., Ballard, R. D., Green, K., Williams, D., Bainbridge, A., Crane, K. & van Andel, T. H. (1979). Submarine thermal springs on the Galapagos Rift. *Science*, 203(4385), 1073-1083.

- Daccò, C., Girometta, C., Asemoloye, M. D., Carpani, G., Picco, A. M., & Tosi, S. (2020). Key fungal degradation patterns, enzymes and their applications for the removal of aliphatic hydrocarbons in polluted soils: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *147*, 104866.
- Danovaro, R., Snelgrove, P. V., & Tyler, P. (2014). Challenging the paradigms of deep-sea ecology. *Trends in ecology & evolution*, *29*(8), 465-475.
- Danovaro, Roberto, Corinaldesi, C., Dell'Anno, A., & Snelgrove, P. V. R. (2017). The deep-sea under global change. *Current Biology*, *27*(11), R461–R465. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.046>.
- De Tender, C., Devriese, L. I., Haegeman, A., Maes, S., Vangeyte, J., Cattrijsse, A., ... & Ruttink, T. (2017). Temporal dynamics of bacterial and fungal colonization on plastic debris in the North Sea. *Environmental science & technology*, *51*(13), 7350-7360.
- De Ulzurrun, G. V. D., Baetens, J. M., Van den Bulcke, J., & De Baets, B. (2017). Modelling three-dimensional fungal growth in response to environmental stimuli. *Journal of Theoretical Biology*, *414*, 35-49.
- Derraik, J. G. (2002). The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine pollution bulletin*, *44*(9), 842-852.
- Devi, R. S., Kannan, V. R., Nivas, D., Kannan, K., Chandru, S., & Antony, A. R. (2015). Biodegradation of HDPE by *Aspergillus* spp. from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India. *Marine pollution bulletin*, *96*(1-2), 32-40.
- Dick, G. J. (2019). The microbiomes of deep-sea hydrothermal vents: distributed globally, shaped locally. *Nature Reviews Microbiology*, *17*(5), 271–283. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0160-2>.
- Ding, C., Wu, X., Auckloo, B. N., Chen, C. T. A., Ye, Y., Wang, K., & Wu, B. (2016). An unusual stress metabolite from a hydrothermal vent fungus *Aspergillus* sp. WU 243 induced by cobalt. *Molecules*, *21*(1), 105.
- Dobbin, C. (2017). An industrial chronology of polyethylene. *Handbook of Industrial polyethylene and technology*, 3-24.
- Doğan, M. (2021). Ultraviolet light accelerates the degradation of polyethylene plastics. *Microscopy Research and Technique*, *84*(11), 2774-2783.
- DSouza, G. C., Sheriff, R. S., Ullanat, V., Shrikrishna, A., Joshi, A. V., Hiremath, L., & Entoori, K. (2021). Fungal biodegradation of low-density polyethylene using consortium of *Aspergillus* species under controlled conditions. *Heliyon*, *7*(5), e07008.

- Dussud, C., & Ghiglione, J. F. (2014). Bacterial degradation of synthetic plastics. In *CIESM workshop monogr* (Vol. 46, pp. 49-54).
- Edgcomb, V. P., Kysela, D. T., Teske, A., de Vera Gomez, A., & Sogin, M. L. (2002). Benthic eukaryotic diversity in the Guaymas Basin hydrothermal vent environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *99*(11), 7658-7662.
- Edgcomb, V. P., Teske, A. P., & Mara, P. (2022). Microbial hydrocarbon degradation in Guaymas Basin—exploring the roles and potential interactions of fungi and sulfate-reducing bacteria. *Frontiers in microbiology*, *13*.
- Ekanayaka, A. H., Tibpromma, S., Dai, D., Xu, R., Suwannarach, N., Stephenson, S. L., ... & Karunarathna, S. C. (2022). A Review of the Fungi That Degrade Plastic. *Journal of Fungi*, *8*(8), 772.
- Erdmann, M., Kleinbub, S., Wachtendorf, V., Schutter, J. D., Niebergall, U., Böhning, M., & Koerdt, A. (2020). Photo-oxidation of PE-HD affecting polymer/fuel interaction and bacterial attachment. *npj Materials Degradation*, *4*(1), 18.
- Eriksson, O. E., & Winka, K. (1997). Supraordinal taxa of Ascomycota. *Myconet*, *1*(1), 1-16.
- Espinosa-Asuar, L., Soto, L. A., Salcedo, D. L., Hernández-Monroy, A., Eguiarte, L. E., Souza, V., & Velez, P. (2020). Bacterial communities from deep hydrothermal systems: the Southern Gulf of California as an example of primeval environments. In *Astrobiology and Cuatro Ciénegas Basin as an Analog of Early Earth* (pp. 149-166). Springer, Cham.
- European Bioplastics. (s.f). What are bioplastics? Recuperado el 23 de noviembre, 2022, de <https://www.european-bioplastics.org/bioplastics/>.
- Fontanella, S., Bonhomme, S., Koutny, M., Husarova, L., Brusson, J. M., Courdavault, J. P., ... & Delort, A. M. (2010). Comparison of the biodegradability of various polyethylene films containing pro-oxidant additives. *Polymer degradation and stability*, *95*(6), 1011-1021.
- Gad, S. E. (2014). Encyclopedia of Toxicology: Polymers.
- Gadanhó, M., & Sampaio, J. P. (2005). Occurrence and diversity of yeasts in the mid-Atlantic ridge hydrothermal fields near the Azores Archipelago. *Microbial Ecology*, *50*, 408-417.
- Galloway, T. S., Cole, M., & Lewis, C. (2017). Interactions of microplastic debris throughout the marine ecosystem. *Nature ecology & evolution*, *1*(5), 1-8.
- Gao, R., Liu, R., & Sun, C. (2022). A marine fungus *Alternaria alternata* FB1 efficiently degrades polyethylene. *Journal of Hazardous Materials*, *431*, 128617.

- Gewert, B., Plassmann, M. M., & MacLeod, M. (2015). Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment. *Environmental science: processes & impacts*, 17(9), 1513-1521.
- Gewert, B., Plassmann, M., Sandblom, O., & MacLeod, M. (2018). Identification of chain scission products released to water by plastic exposed to ultraviolet light. *Environmental Science & Technology Letters*, 5(5), 272-276.
- Geyer, R. (2020). Production, use, and fate of synthetic polymers. In *Plastic waste and recycling* (pp. 13-32). Academic Press.
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science advances*, 3(7), e1700782.
- Ghatge, S., Yang, Y., Ahn, J. H., & Hur, H. G. (2020). Biodegradation of polyethylene: a brief review. *Applied Biological Chemistry*, 63(1), 1-14.
- Ghosh, S. K., Pal, S., & Ray, S. (2013). Study of microbes having potentiality for biodegradation of plastics. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(7), 4339-4355.
- Gkoutselis, G., Rohrbach, S., Harjes, J., Obst, M., Brachmann, A., Horn, M. A., & Rambold, G. (2021). Microplastics accumulate fungal pathogens in terrestrial ecosystems. *Scientific reports*, 11(1), 1-13.
- Gladfelter, A. S., James, T. Y., & Amend, A. S. (2019). Marine fungi. *Current Biology*, 29(6), R191-R195.
- Goel, V., Luthra, P., Kapur, G. S., & Ramakumar, S. S. V. (2021). Biodegradable / bioplastics: myths and realities. *Journal of Polymers and the Environment*, 1-26.
- Goffredi, S. K., Johnson, S., Tunnicliffe, V., Caress, D., Clague, D., Escobar, E., ... & Vrijenhoek, R. (2017). Hydrothermal vent fields discovered in the southern Gulf of California clarify role of habitat in augmenting regional diversity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1859), 20170817.
- Goffredi, S. K., Motooka, C., Fike, D. A., Gusmão, L. C., Tilic, E., Rouse, G. W., & Rodríguez, E. (2021). Mixotrophic chemosynthesis in a deep-sea anemone from hydrothermal vents in the Pescadero Basin, Gulf of California. *BMC biology*, 19(1), 1-18.
- Gostinčar, C., Gunde-Cimerman, N., & Grube, M. (2015). 10 Polyextremotolerance as the fungal answer to changing environments. In *Microbial evolution under extreme conditions* (pp. 185-208). de Gruyter.
- Gostinčar, C., Zalar, P., & Gunde-Cimerman, N. (2022). No need for speed: Slow development of fungi in extreme environments. *Fungal Biology Reviews*, 39, 1-14.

- Gregory, M. R. (2009). Environmental implications of plastic debris in marine settings—entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2013-2025.
- Gu, J. D. (2003). Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances. *International biodeterioration & biodegradation*, 52(2), 69-91.
- Hadar, Y., & Sivan, A. (2004). Colonization, biofilm formation and biodegradation of polyethylene by a strain of *Rhodococcus ruber*. *Applied microbiology and biotechnology*, 65(1), 97.
- Haram, L. E., Carlton, J. T., Ruiz, G. M., & Maximenko, N. A. (2020). A plasticene lexicon. *Marine pollution bulletin*, 150, 110714.
- Harrison, J. P., Boardman, C., O'Callaghan, K., Delort, A. M., & Song, J. (2018). Biodegradability standards for carrier bags and plastic films in aquatic environments: a critical review. *Royal Society open science*, 5(5), 171792.
- Hartmann, N. B., Hüffer, T., Thompson, R. C., Hassellöv, M., Verschoor, A., Daugaard, A. E., ... & Wagner, M. (2019). Are we speaking the same language? Recommendations for a definition and categorization framework for plastic debris.
- Hawksworth, D. L. 2001. The magnitude of fungal diversity: 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research* 105:1422-1432.
- Hawksworth, D. L., & Lücking, R. (2017). Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiology spectrum*, 5(4), 5-4.
- Henye, T. L., & Bischoff, J. L. (1973). Tectonic elements of the northern part of the Gulf of California. *Geological Society of America Bulletin*, 84(1), 315-330.
- Hernandez, M. J. A., (2020). Diversidad Microbiana cultivable e interacciones ecológicas entre bacterias y hongos de ventilas hidrotermales y fondo marino del Sur del Golfo de California, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hopewell, J., Dvorak, R., & Kosior, E. (2009). Plastics recycling: challenges and opportunities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2115-2126.
- Hundertmark, T., Mayer, M., McNally, C., Simons, T. J., & Witte, C. (2018). How plastics waste recycling could transform the chemical industry. *McKinsey & Company*, 12, 1-1.
- Isaac, S. (1991). *Fungal-plant interactions*. Springer Science & Business Media.

- Jacquín, J., Cheng, J., Odobel, C., Pandin, C., Conan, P., Pujo-Pay, M., ... & Ghiglione, J. F. (2019). Microbial ecotoxicology of marine plastic debris: a review on colonization and biodegradation by the “Plastisphere”. *Frontiers in microbiology*, *10*, 865.
- Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., ... & Law, K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, *347*(6223), 768-771.
- Jebaraj, C. S., Raghukumar, C., Behnke, A., & Stoeck, T. (2010). Fungal diversity in oxygen-depleted regions of the Arabian Sea revealed by targeted environmental sequencing combined with cultivation. *FEMS Microbiology Ecology*, *71*(3), 399-412.
- Jennings, S., Mélin, F., Blanchard, J. L., Forster, R. M., Dulvy, N. K., & Wilson, R. W. (2008). Global-scale predictions of community and ecosystem properties from simple ecological theory. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *275*(1641), 1375-1383.
- Jeon, H. J., & Kim, M. N. (2015). Functional analysis of alkane hydroxylase system derived from *Pseudomonas aeruginosa* E7 for low molecular weight polyethylene biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *103*, 141-146.
- Jobard, M., Rasconi, S., & Sime-Ngando, T. (2010). Diversity and functions of microscopic fungi: a missing component in pelagic food webs. *Aquatic Sciences*, *72*(3), 255-268.
- Johnson, K. S., Childress, J. J., Hessler, R. R., Sakamoto-Arnold, C. M., & Beehler, C. L. (1988). Chemical and biological interactions in the Rose Garden hydrothermal vent field, Galapagos spreading center. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, *35*(10-11), 1723-1744.
- Johnson, T. W., & Sparrow, F. K. (1961). Fungi in oceans and estuaries. *Fungi in oceans and estuaries*.
- Jones, E. G. (1994). Fungal adhesion. *Mycological Research*, *98*(9), 961-981.
- Jones, E. G., Pang, K. L., Abdel-Wahab, M. A., Scholz, B., Hyde, K. D., Boekhout, T., Ebel, R., Rateb, M. E., Henderson, L., Sakayaroj, J., Suetrong, S., Dayarathne, M. C., Kumar, V., Raghukumar, S., Sridhar, K. R., Bahkali, A. H. A., Gleason, F. H. & Norphanphoun, C. (2019). An online resource for marine fungi. *Fungal Diversity*, *96*(1), 347-433. <https://doi.org/10.1007/s13225019-00426-5>.
- Jones, E. G., Suetrong, S., Sakayaroj, J., Bahkali, A. H., Abdel-Wahab, M. A., Boekhout, T., & Pang, K. L. (2015). Classification of marine ascomycota, basidiomycota, blastocladiomycota and chytridiomycota. *Fungal Diversity*, *73*(1), 1-72.
- Jones, E.B.G. Fifty Years of Marine Mycology. *Fungal Diversity*. **2011**, *50*, 73–112.

- Jones, E.B.G., J. Sakayaroj, S. Suetrong, S. Somrithipol and K.L. Pang. 2009. Classification of marine Ascomycota, anamorphic taxa and Basidiomycota. *Fungal Divers.* 35: 1–187.
- Kagami, M., Miki, T., & Takimoto, G. (2014). Mycoloop: chytrids in aquatic food webs. *Frontiers in microbiology*, 5, 166.
- Kane, I. A., Clare, M. A., Miramontes, E., Wogelius, R., Rothwell, J. J., Garreau, P., & Pohl, F. (2020). Seafloor microplastic hotspots controlled by deep-sea circulation. *Science*, 368(6495), 1140-1145.
- Kawka, O. E., & Simoneit, B. R. (1994). Hydrothermal pyrolysis of organic matter in Guaymas Basin: I. Comparison of hydrocarbon distributions in subsurface sediments and seabed petroleum. *Organic Geochemistry*, 22(6), 947-978.
- Keeler, E., Burgaud, G., Teske, A., Beaudoin, D., Mehiri, M., Dayras, M., ... & Edgcomb, V. (2021). Deep-sea hydrothermal vent sediments reveal diverse fungi with antibacterial activities. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(8), fiab103.
- Kettner, M. T., Rojas-Jimenez, K., Oberbeckmann, S., Labrenz, M., & Grossart, H. P. (2017). Microplastics alter composition of fungal communities in aquatic ecosystems. *Environmental Microbiology*, 19(11), 4447-4459.
- Koelmans, A. A., Kooi, M., Law, K. L., & Van Sebille, E. (2017). All is not lost: deriving a top-down mass budget of plastic at sea. *Environmental Research Letters*, 12(11), 114028.
- Kohlmeyer, J., & Kohlmeyer, E. (1979). *Marine mycology: the higher fungi*.
- Kumar, A., Bisht, B. S., Joshi, V. D., & Dhewa, T. (2011). Review on bioremediation of polluted environment: a management tool. *International journal of environmental sciences*, 1(6), 1079-1093.
- Kvenvolden, K. A., & Cooper, C. K. (2003). Natural seepage of crude oil into the marine environment. *Geo-marine letters*, 23, 140-146.
- Lacerda, A. L. D. F., Proietti, M. C., Secchi, E. R., & Taylor, J. D. (2020). Diverse groups of fungi are associated with plastics in the surface waters of the Western South Atlantic and the Antarctic Peninsula. *Molecular Ecology*.
- Lara-Lara, J. R., Arenas-Fuentes, V., Bazán-Guzmán, C., Díaz-Castañeda, V., Escobar-Briones, E., García-Abad, M. D. L. C., ... & Valdez-Holguín, J. E. (2008). Los ecosistemas marinos. *Capital natural de México*, 1, 135-159.
- Leahy, J. G., & Colwell, R. R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiological reviews*, 54(3), 305-315.

- Le Calvez, T., Burgaud, G., Mahé, S., Barbier, G., & Vandenkoornhuysen, P. (2009). Fungal diversity in deep-sea hydrothermal ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(20), 6415-6421.
- Lee, B., Pometto III, A. L., Fratzke, A., & Bailey Jr, T. B. (1991). Biodegradation of degradable plastic polyethylene by *Phanerochaete* and *Streptomyces* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(3), 678-685.
- Lindahl, B. D., & Olsson, S. (2004). Fungal translocation-creating and responding to environmental heterogeneity. *Mycologist*, 18(2), 79-88.
- Lluch-Cota, S. E., Aragon-Noriega, E. A., Arreguín-Sánchez, F., Aurióles-Gamboa, D., Bautista-Romero, J. J., Brusca, R. C., ... & Sierra-Beltrán, A. P. (2007). The Gulf of California: review of ecosystem status and sustainability challenges. *Progress in oceanography*, 73(1), 1-26.
- Lonsdale, P. (1989). Geology and tectonic history of the Gulf of California. In *The Eastern Pacific Ocean and Hawaii* (Vol. 499): Geological Society of America. pp 499-521.
- Lucas, N., Bienaime, C., Belloy, C., Queneudec, M., Silvestre, F., & Nava-Saucedo, J. E. (2008). Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques—A review. *Chemosphere*, 73(4), 429-442.
- Masó, M., Garcés, E., & Camp, J. (2003). Drifting plastic debris as a potential vector for dispersing Harmful Algal Bloom (HAB) species. *ci. Mar.* 67 107–111. 10.3989/scimar.2003.67n1107.
- Masry, M., Rossignol, S., Gardette, J. L., Therias, S., Bussière, P. O., & Wong-Wah-Chung, P. (2021). Characteristics, fate, and impact of marine plastic debris exposed to sunlight: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 171, 112701.
- Massardier-Nageotte, V., Pestre, C., Cruard-Pradet, T., & Bayard, R. (2006). Aerobic and anaerobic biodegradability of polymer films and physico-chemical characterization. *Polymer Degradation and Stability*, 91(3), 620-627.
- Mejía-Mercado, B. E., Hinojosa-Corona, A., & Hendrickx, M. E. (2014). Explorando el Mar profundo del Golfo de California 2008-2014. *Mexico: CICESE*, 245.
- Méndez, C. R., Vergaray, G., Béjar, V. R., & Cárdenas, K. J. (2007). Aislamiento y caracterización de micromicetos biodegradadores de polietileno. *Revista peruana de biología*, 13(3), 203-206.
- Micheli, P.A. (1729). *Nova Plantarum Genera. Florentiae.* MÜLLER, O.F. (1777). *Flora Danica*, vol. V, fasc. 13. Kopenha gen. (date fide Stafleu F.A. and Cowan, R.S. 1981. *Taxonomic literature III* 805, The Hague).
- Moore, E. M., Twiss, R. J., & Twiss, R. J. (1995). *Tectonics*. Macmillan.

- Nagahama, T., Takahashi, E., Nagano, Y., Abdel-Wahab, M. A., & Miyazaki, M. (2011). Molecular evidence that deep-branching fungi are major fungal components in deep-sea methane cold-seep sediments. *Environmental Microbiology*, *13*(8), 2359-2370.
- Nagano, Y., & Nagahama, T. (2012). Fungal diversity in deep-sea extreme environments. *Fungal Ecology*, *5*(4), 463-471.
- Nagano, Y., Miura, T., Tsubouchi, T., Lima, A. O., Kawato, M., Fujiwara, Y., & Fujikura, K. (2020). Cryptic fungal diversity revealed in deep-sea sediments associated with whale-fall chemosynthetic ecosystems. *Mycology*, *11*(3), 263-278.
- Negrete-Aranda, R., Neumann, F., Contreras, J., Harris, R. N., Spelz, R. M., Zierenberg, R., & Caress, D. W. (2021). Transport of Heat by Hydrothermal Circulation in a Young Rift Setting: Observations from the Auka and JaichMaa Ja'ag'vent Field in the Pescadero Basin, Southern Gulf of California (No. EGU21-3525). Copernicus Meetings.
- Nerland, I. L., Halsband, C., Allan, I., & Thomas, K. V. (2014). Microplastics in marine environments: Occurrence, distribution and effects.
- Nowlin, T. E. (2014). Business and Technology of the Global Polyethylene Industry: An In-depth Look at the History, Technology, Catalysts, and Modern Commercial Manufacture of Polyethylene and Its Products. John Wiley & Sons.
- Oberbeckmann, S., Osborn, A. M., & Duhaime, M. B. (2016). Microbes on a bottle: substrate, season and geography influence community composition of microbes colonizing marine plastic debris. *PLoS One*, *11*(8), e0159289.
- Olguin, G. J. C. (2022). Evaluación de la degradación de hidrocarburos (alcanos y alquenos) por aislados mexicanos de *Corollospora maritima*. Tesis de maestría. UNAM.
- Overy, D. P., Rämä, T., Oosterhuis, R., Walker, A. K., & Pang, K. L. (2019). The neglected marine fungi, sensu stricto, and their isolation for natural products' discovery. *Marine Drugs*, *17*(1), 42.
- Paço, A., Duarte, K., da Costa, J. P., Santos, P. S., Pereira, R., Pereira, M. E., ... & Rocha-Santos, T. A. (2017). Biodegradation of polyethylene microplastics by the marine fungus *Zalerion maritimum*. *Science of the Total Environment*, *586*, 10-15.
- Paduan, J. B., Zierenberg, R. A., Clague, D. A., Spelz, R. M., Caress, D. W., Troni, G., ... & Wheat, C. G. (2018). Discovery of hydrothermal vent fields on Alarcón Rise and in Southern Pescadero Basin, Gulf of California. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, *19*(12), 4788-4819.
- Pan, C., Shi, Y., Aucloo, B. N., ul Hassan, S. S., Akhter, N., Wang, K., ... & Wu, B. (2017). Isolation and Antibiotic Screening of Fungi from a Hydrothermal Vent Site and

- Characterization of Secondary Metabolites from *Penicillium* Isolate. *Marine biotechnology*, 19(5), 469-479.
- Pang, K. L., Overy, D. P., Jones, E. G., da Luz Calado, M., Burgaud, G., Walker, A. K., ... & Bills, G. F. (2016). 'Marine fungi' and 'marine-derived fungi' in natural product chemistry research: toward a new consensual definition. *Fungal Biology Reviews*, 30(4), 163-175.
- Pantoja Alor, J., & Gómez Caballero, J. A. (2004). Los sistemas hidrotermales y el origen de la vida. *Ciencias*, (075).
- Patel, R. M. (2017). Types and basics of Polyethylene. *Handbook of industrial polyethylene and technology*, 105-138.
- Peacock, A. (2000). *Handbook of polyethylene: structures: properties, and applications*. CRC press.
- Persson, L., Carney Almroth, B. M., Collins, C. D., Cornell, S., de Wit, C. A., Diamond, M. L., Fantke, P., Hassellöv, M., MacLeod, M., Ryberg, M. W., Søgaaard Jørgensen, P., Villarrubia-Gómez, P., Wang, Z. and Hauschild, M. Z. (2022). Outside the Safe Operating Space of the Planetary Boundary for Novel Entities. *Environmental Science & Technology*, 56(3), 1510-1521. <http://doi.org/10.1021/acs.est.1c04158>
- Plastics Europe (2020). Plastics the facts – 2020: An analysis of European plastics production, demand and waste data. https://plasticseurope.org/es/wp-content/uploads/sites/4/2021/11/Plastics_the_facts-WEB-2020_versionJun21_final-1.pdf.
- Posadas, H. J. C. (2023). Evaluación de la diversidad fúngica en sedimento de una zona mínima de oxígeno del Océano Pacífico, costa de Mazatlán, Zona Económica Exclusiva de México. Tesis de maestría. UNAM.
- Prenafeta-Boldú, F. X., De Hoog, G. S., & Summerbell, R. C. (2018). Fungal communities in hydrocarbon degradation. *Microbial Communities Utilizing Hydrocarbons and Lipids: Members, Metagenomics and Ecophysiology*; McGinity, *TJ, Ed*, 1-36.
- Puri, N., Kumar, B., & Tyagi, H. (2013). Utilization of recycled wastes as ingredients in concrete mix. *International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering (IJITEE)* ISSN, 22783075.
- Raghukumar, S. (2004). The role of fungi in marine detrital processes. National Institute of Oceanography, Goa.
- Ramirez-Llodra, E., Shank, T. M., & German, C. R. (2007). Biodiversity and biogeography of hydrothermal vent species: thirty years of discovery and investigations. *Oceanography*, 20(1), 30-41.

- Reddy, M. M., Vivekanandhan, S., Misra, M., Bhatia, S. K., & Mohanty, A. K. (2013). Biobased plastics and bionanocomposites: Current status and future opportunities. *Progress in polymer science*, 38(10-11), 1653-1689.
- Reed, C. (2015). Dawn of the Plasticene age. *New Scientist*, 225(3006), 28-32.
- Restrepo-Flórez, J. M., Bassi, A., & Thompson, M. R. (2014). Microbial degradation and deterioration of polyethylene—A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 88, 83-90.
- Rochman, C. M., Browne, M. A., Halpern, B. S., Hentschel, B. T., Hoh, E., Karapanagioti, H. K., ... & Thompson, R. C. (2013). Classify plastic waste as hazardous. *Nature*, 494(7436), 169-171.
- Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin, F. S., Lambin, E. F., ... & Foley, J. A. (2009). A safe operating space for humanity. *nature*, 461(7263), 472-475.
- Roden, G. I. (1964). Oceanographic aspects of Gulf of California. American Association of Petroleum Geologists.
- Rogelj, J., Popp, A., Calvin, K. V., Luderer, G., Emmerling, J., Gernaat, D., ... & Tavoni, M. (2018). Scenarios towards limiting global mean temperature increase below 1.5 C. *Nature Climate Change*, 8(4), 325-332.
- Rona, P. A., Klinkhammer, G., Nelsen, T. A., Trefry, J. H., & Elderfield, H. (1986). Black smokers, massive sulphides and vent biota at the Mid-Atlantic Ridge. *Nature*, 321(6065), 33-37.
- Rosa, L. H., Pellizzari, F. M., Ogaki, M. B., de Paula, M. T. R., Mansilla, A., Marambio, J., ... & Rosa, C. A. (2019). Sub-Antarctic and Antarctic Marine Ecosystems: An Unexplored Ecosystem of Fungal Diversity. In *Fungi of Antarctica* (pp. 221-242). Springer, Cham.
- Sáenz, M., Borodulina, T., Diaz, L., & Banchon, C. (2019). Minimal conditions to degrade low density polyethylene by *Aspergillus terreus* and *Niger*. *Journal of Ecological Engineering*, 20(6).
- Salcedo, D. L., Soto, L. A., & Paduan, J. B. (2019). Trophic structure of the macrofauna associated to deep-vents of the southern Gulf of California: Pescadero Basin and Pescadero Transform Fault. *PloS one*, 14(11), e0224698.
- Salcedo, D. L., Soto, L. A., & Paduan, J. B. (2021). Trophic interactions among the macrofauna of the deep-sea hydrothermal vents of Alarcón Rise, Southern Gulf of California. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 176, 103609.
- Samat, A. F., Carter, D., & Abbas, A. (2023). Biodeterioration of pre-treated polypropylene

- by *Aspergillus terreus* and *Engyodontium album*. *npj Materials Degradation*, 7(1), 28.
- Sánchez, C. (2020b). Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: An overview of macro-and microplastics biodegradation. *Biotechnology advances*, 40, 107501.
- Sangale, M. K., Shah Nawaz, M., & Ade, A. B. (2019). Potential of fungi isolated from the dumping sites mangrove rhizosphere soil to degrade polythene. *Scientific Reports*, 9(1), 1-11.
- Sauvadet, A. L., Gobet, A., & Guillou, L. (2010). Comparative analysis between protist communities from the deep-sea pelagic ecosystem and specific deep hydrothermal habitats. *Environmental microbiology*, 12(11), 2946-2964.
- Schmidt, C., Krauth, T., & Wagner, S. (2017). Export of plastic debris by rivers into the sea. *Environmental science & technology*, 51(21), 12246-12253.
- Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: a comprehensive review. *Biotechnology advances*, 26(3), 246-265.
- Simoneit, B. R. T., Leif, R. N., Sturz, A. A., Sturdivant, A. E., & Gieskes, J. M. (1992). Geochemistry of shallow sediments in Guaymas Basin, Gulf of California: hydrothermal gas and oil migration and effects of mineralogy. *Organic geochemistry*, 18(6), 765-784.
- Skariyachan, S., Setlur, A. S., Naik, S. Y., Naik, A. A., Usharani, M., & Vasist, K. S. (2017). Enhanced biodegradation of low and high-density polyethylene by novel bacterial consortia formulated from plastic-contaminated cow dung under thermophilic conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 8443-8457.
- Smeaton, C. (2021). Augmentation of global marine sedimentary carbon storage in the age of plastic. *Limnology and Oceanography Letters*, 6(3), 113-118.
- Soto, L. A. y Estradas, A. (2013). La exploración en el mar profundo de ambientes extremos : sistemas hidrotermales. En: Low, A. y Peters, E.M. (Eds.). *La frontera final: el océano profundo*. INECC, México. 105-149 pp.
- Spalding, M. A., & Chatterjee, A. (Eds.). (2017). *Handbook of industrial polyethylene and technology: Definitive guide to manufacturing, properties, processing, applications and markets set*. John Wiley & Sons.
- Steffen, W., Richardson, K., Rockström, J., Cornell, S. E., Fetzer, I., Bennett, E. M., ... & Sörlin, S. (2015). Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science*, 347(6223), 1259855.

- Taghavi, N., Zhuang, W. Q., & Baroutian, S. (2021). Enhanced biodegradation of non-biodegradable plastics by UV radiation: Part 1. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(6), 106464.
- Takami, H., Inoue, A., Fuji, F., & Horikoshi, K. (1997). Microbial flora in the deepest sea mud of the Mariana Trench. *FEMS Microbiology Letters*, 152(2), 279-285.
- Tarasov, V. G., Gebruk, A. V., Mironov, A. N., & Moskalev, L. I. (2005). Deep-sea and shallow-water hydrothermal vent communities: two different phenomena? *Chemical Geology*, 224(1-3), 5-39.
- The Pew Charitable Trusts. (2020). Breaking the plastic wave: A comprehensive assessment of pathways towards stopping ocean plastic pollution. <https://www.pewtrusts.org/en/research-and-analysis/articles/2020/07/23/breaking-the-plastic-wave-top-findings>
- Thom, C., & Church, M. B. (1918). *Aspergillus fumigatus*, *A. nidulans*, *A. terreus* n. sp. and their allies. *American Journal of Botany*, 5(2), 84-104.
- Thompson, R. C., Moore, C. J., Vom Saal, F. S., & Swan, S. H. (2009). Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2153-2166.
- Tivey, M. K. (1998). How to build a black smoker chimney. *Oceanus*, 41(2), 22-26.
- Tronchin, G., Pihet, M., Lopes-Bezerra, L. M., & Bouchara, J. P. (2008). Adherence mechanisms in human pathogenic fungi. *Sabouraudia*, 46(8), 749-772.
- Tunnicliffe, V. (1991). The biology of hydrothermal vents: ecology and evolution. *Oceanography and Marine Biology*, 29, 319-407.
- UNEP. (2014). Plastic waste causes financial damage of US \$13 billion to marine ecosystems each year as concern grows over microplastics (<https://www.unep.org/search/node?keys=Plastic+Waste+Causes+Financial+Damage+of+US%2413+Billion+to+Marine+Ecosystems+Each+Year+as+Concern+Grows+over+Microplastics>).
- Van Cauwenberghe, L., Devriese, L., Galgani, F., Robbins, J., & Janssen, C. R. (2015). Microplastics in sediments: a review of techniques, occurrence and effects. *Marine environmental research*, 111, 5-17.
- Van Dover, C. L. (2000). The ecology of deep-sea hydrothermal vents. In *The Ecology of Deep-Sea Hydrothermal Vents*. Princeton University Press.
- Van Dover, C. L., & Lichtwardt, R. W. (1986). A new trichomycete commensal with a galatheid squat lobster from deep-sea hydrothermal vents. *The Biological Bulletin*, 171(2), 461-468.

- Van Dover, C. L., Arnaud-Haond, S., Gianni, M., Helmreich, S., Huber, J. A., Jaeckel, A. L., ... & Yamamoto, H. (2018). Scientific rationale and international obligations for protection of active hydrothermal vent ecosystems from deep-sea mining. *Marine Policy*, *90*, 20-28.
- Van Dover, C. L., Ward, M. E., Scott, J. L., Underdown, J., Anderson, B., Gustafson, C., ... & Carnegie, R. B. (2007). A fungal epizootic in mussels at a deep-sea hydrothermal vent. *Marine Ecology*, *28*(1), 54-62.
- Vargas-Gastélum, L., & Riquelme, M. (2020). The Mycobiota of the Deep Sea: What Omics Can Offer. *Life*, *10*(11), 292.
- Velez, P., Gasca-Pineda, J., & Riquelme, M. (2020). Cultivable fungi from deep-sea oil reserves in the Gulf of Mexico: Genetic signatures in response to hydrocarbons. *Marine environmental research*, *153*, 104816.
- Velez, P., Salcedo, D. L., Espinosa-Asuar, L., Gasca-Pineda, J., Hernandez-Monroy, A., & Soto, L. A. (2022). Fungal diversity in sediments from deep-sea extreme ecosystems: Insights into low-and high-temperature hydrothermal vents, and an oxygen minimum zone in the southern Gulf of California, Mexico. *Frontiers in Marine Science*, 149.
- Velez, P., Walker, A. K., Gasca-Pineda, J., Barrios, A., Divanli, D., González, M. C., & Nakagiri, A. (2021). Fine-scale temporal variation of intertidal marine fungal community structure: insights from an impacted Baja California sandy beach in Mexico. *Marine Biodiversity*, *51*(1), 1-15.
- Vesentini, D., Dickinson, D. J., & Murphy, R. J. (2007). The protective role of the extracellular mucilaginous material (ECMM) from two wood-rotting basidiomycetes against copper toxicity. *International biodeterioration & biodegradation*, *60*(1), 1-7.
- Vijaya, Ch., Reddy, R. M. (2008). Impact of soil composting using municipal solid waste on biodegradation of plastics. *Indian Journal of Biotechnology*, *7*, 235-239.
- Villarrubia-Gómez, P., Fabres, J., & Cornella, S. E. (2018). Marine Plastic Pollution as a Planetary Boundary Threat: The Drifting Piece in the Sustainability Puzzle. *Marine Policy*.
- Walker, A. K., Vélez, P., & González, M. C. (2017). *Marine Fungi*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester.
- Walker, T. R., & Fequet, L. (2023). Current trends of unsustainable plastic production and micro (nano) plastic pollution. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116984.
- Wei, X., Guo, S., Gong, L. F., He, G., Pang, K. L., & Luo, Z. H. (2018). Cultivable fungal diversity in deep-sea sediment of the East Pacific Ocean. *Geomicrobiology Journal*, *35*(9), 790-797.

- Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(12), 4576-4579.
- Xu, W., Gong, L. F., Pang, K. L., & Luo, Z. H. (2018). Fungal diversity in deep-sea sediments of a hydrothermal vent system in the Southwest Indian Ridge. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 131, 16-26.
- Zalasiewicz, J., Waters, C. N., Do Sul, J. A. I., Corcoran, P. L., Barnosky, A. D., Cearreta, A., ... & Yonan, Y. (2016). The geological cycle of plastics and their use as a stratigraphic indicator of the Anthropocene. *Anthropocene*, 13, 4-17.
- Zamorano, P., Hendrickx, M. E., Méndez, N., Gómez, S., Serrano, D., Aguirre, H., ... & Morales-Serna, F. N. (2014). La exploración de las aguas profundas del Pacífico mexicano: Proyecto Talud. *La frontera final: el océano profundo. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, México.*
- Zeghal, E., Vaksmaa, A., Vielfaure, H., Boekhout, T., & Niemann, H. (2021). The potential role of marine fungi in plastic degradation—A review. *Frontiers in Marine Science*, 8, 738877.
- Zettler, E. R., Mincer, T. J., & Amaral-Zettler, L. A. (2013). Life in the “plastisphere”: microbial communities on plastic marine debris. *Environmental science & technology*, 47(13), 7137-7146.
- Zimmermann, W. (2021). Degradation of plastics by fungi. *Encyclopedia of Mycology*. 650-661.
- Zvereva, L. V., & Borzykh, O. G. (2022). Fungi in Deep-Sea Ecosystems of the World Ocean: A Review. *Russian Journal of Marine Biology*, 48(3), 139-148.

12. Apéndice

Apéndice 1. Volátiles extraídos de núcleos de sedimentos en el campo de ventilación Auka de la Cuenca de Pescadero (Modificado de **Paduan et al., 2018**)

Volátiles orgánicos presentes en muestras de sedimentos en Auka

| Núcleo | | D757-PC45 | D757-PC48 | D757-PC56 | D757-PC76 |
|---|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Latitud | | 23.957211 | 23.957218 | 23.957015 | 23.957083 |
| Longitud | | -108.862132 | -108.862119 | -108.861908 | -108.862123 |
| Profundidad | m | 3680 | 3680 | 3681 | 3679 |
| CH ₄ | ppm | 7630 | 2680 | 4900 | 5330 |
| C ₂ H ₆ | ppm | 594 | 263 | 409 | 340 |
| C ₃ H ₈ | ppm | 734 | 275 | 380 | 335 |
| isoC ₄ H ₁₀ | ppm | 365 | 184 | 102 | 111 |
| C ₄ H ₁₀ | ppm | 648 | 324 | 191 | 106 |
| neoC ₅ H ₁₂ | ppm | 5.58 | 4.09 | 3.73 | 1.91 |
| isoC ₅ H ₁₂ | ppm | 260 | 218 | 78.0 | 57.5 |
| C ₅ H ₁₂ | ppm | 177 | 148 | 58.9 | 34.4 |
| cC ₅ H ₁₀ | ppm | 0.00 | 14.2 | 0.00 | 0.00 |
| 2,2MC ₄ | ppm | 19.7 | 17.6 | 6.69 | 8.99 |
| 2MC ₅ | ppm | 49.9 | 296 | 22.6 | 34.0 |
| 3MC ₅ | ppm | 13.6 | 130 | 28.3 | 18.9 |
| C ₆ H ₁₄ | ppm | 432.2 | 225 | 12.1 | 74.4 |
| McC ₅ | ppm | 0.00 | 23.5 | 0.00 | 0.00 |
| C ₇ H ₁₆ | ppm | 260 | 267 | 3.23 | 68.1 |
| McC ₆ | ppm | 450 | 248 | 2.11 | 45.0 |
| CH ₄ /C ₂ H ₆ +C ₃ H ₈ | | 5.74 | 4.98 | 6.21 | 7.90 |
| isoC ₄ H ₁₀ /C ₄ H ₁₀ | | 0.56 | 0.57 | 0.53 | 1.05 |
| isoC ₅ H ₁₂ /C ₅ H ₁₂ | | 1.47 | 1.47 | 1.32 | 1.67 |
| δ ¹³ CH ₄ | | -31.36 | -30.45 | -28.73 | -28.56 |

O₂, N₂, Ar y CO₂ no fueron medidos; los alquenos estaban por debajo de la detección

c=ciclo; M=metilo