



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Evaluación *in vitro* de las estrategias de desplazamiento a través de un laberinto de hongos y bacterias aislados de ventilas hidrotermales.

Tesis que para obtener el título de

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

Blanca Isabel Martínez Vargas

DIRECTORAS:

Dra. Patricia Vélez Aguilar

M. en C. Jesica Abril Hernández Monroy



AGOSTO 2023



Oficio No. BIOSAC/C-996/2023
Asunto: Modalidad de Titulación

Mtro. Ricardo Valderrama Valdez
Director de Administración Escolar, BUAP
PRESENTE

Por este conducto le envío un cordial saludo, así mismo me permito informarle que la **C. BLANCA ISABEL MARTINEZ VARGAS** con número de matrícula **201731246** de la Licenciatura en Biología, presentará su Examen Profesional con el título de tesis: **Evaluación in vitro de las estrategias de desplazamiento a través de un laberinto de hongos y bacterias aislados de ventilas hidrotermales**. Bajo la Dirección de la Dra. Patricia Vélez Aguilar y la Codirección de la M. en C. Jesica Abril Hernández Monroy. La asignación del Jurado quedará integrado por:

PRESIDENTE: DRA. DALIA MOLINA ROMERO
SECRETARIO: DRA. PATRICIA VELEZ AGUILAR
VOCAL: DR. DANIEL SIHUANCA MENDOZA
SUPLENTE: M. EN C. JESICA ABRIL HERNANDEZ MONROY

El examen profesional se llevó a cabo **presencial el día 22 de septiembre de 2023 a las 11:00 horas.**

Sin otro particular por el momento, me despido de usted reiterándole la seguridad de mi consideración distinguida.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Zaragoza, 05 de septiembre de 2023

Dr. Salvador Galicia Isasmendi
Director

Oficio No. BIOSAC/C-996/2023
Asunto: Modalidad de Titulación

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 del Golfo de California” Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT (Clave: IN200921).

AGRADECIMIENTOS

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por formarme como bióloga y por todas las enseñanzas a lo largo de estos cinco años.

Al Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme conocer sus instalaciones y llevar a cabo mi proyecto de tesis.

Al Laboratorio de Ecología Molecular de Micromicetes C-121 del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México por la confianza, las herramientas proporcionadas y darme la oportunidad de seguir aprendiendo.

A mi directora de tesis, la Dra. Patricia Vélez Aguilar por su confianza, guía y enseñanzas para la realización de este proyecto. He aprendido mucho. Gracias.

A mi directora de tesis, la M. en C. Jesica Abril Hernández Monroy, por sus enseñanzas, paciencia y gran apoyo tanto en el laboratorio como fuera de él. Gracias por tu confianza e infinito apoyo.

Agradezco el servicio del Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, como parte del Laboratorio Nacional de la Biodiversidad, y en particular del apoyo técnico de L.I. Cabrera-Martínez, A. Jiménez-Marín, N. López y L. Márquez por la orientación para el uso de los instrumentos.

Al Laboratorio de Microscopía y Fotografía de la Biodiversidad I del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México por la guía para el manejo de la microscopía electrónica de barrido para este proyecto y en especial a la M. en C. María Berenit Mendoza Garfias por su apoyo y asesoría.

Al Laboratorio de Microscopía y Fotografía de la Biodiversidad II del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México por la obtención de imágenes y en especial a la Biól. Susana Guzmán Gómez, por su acompañamiento durante la toma de fotografías y su asesoría.

A mis compañeros del laboratorio de Ecología Molecular de Micromicetes C-121 por siempre animarme y por su amistad. Los admiro mucho.

DEDICATORIA

A mi madre por todo tu amor, cariño, desayunos y palabras de aliento a lo largo de mi vida, sin ti, no podría cumplir todas mis metas, gracias por ser un ejemplo de vida. Te amo.

A mi padre por enseñarme a ser fuerte, responsable y atenta, por todo tu esfuerzo todos estos años para que pueda alcanzar mis sueños. Esta tesis es para ti.

A Angie por ser mi mentora de vida, por siempre apoyarme en mis proyectos y decisiones, por creer en mí y hacerme fuerte en momentos complicados. Siempre juntas. Te amo.

A Caro por ser mi alma gemela, por siempre creer en mí y levantarme de las caídas, por ser un ejemplo de fortaleza. Esto va por todas nuestras desveladas de estudio. Siempre juntas. Te amo.

A Leví por ser mi mejor amigo y mi compañero en estos años. Gracias por hacerme muy feliz y creer siempre en mí. Nos esperan más aventuras. Este es el inicio. Te amo.

A Marco por todo su apoyo y esfuerzo en la construcción de los laberintos, por creer en mí y apoyarme en todas mis locuras. Gracias por ser mi hermano. Sin ti, esto no sería posible.

A la Dra. Patricia Vélez Aguilar y la M. en C. Jesica Abril Hernández Monroy por abrirme las puertas de su laboratorio, por confiar en mí y por todas las enseñanzas acerca de la ciencia y la vida, cada una de ellas me hace crecer y amar más la Biología.

A la familia de Jess, por acogerme en otra ciudad. Por su calor y cariño durante mi estancia. Me divertí mucho. Gracias.

A todos mis amigos de la universidad y del laboratorio por darme todo su apoyo y cariño.

A todas las personas que he conocido y me han impulsado.

Lo que sabemos es una gota de agua, lo que ignoramos es el océano.

Isaac Newton

La vida es una unión simbiótica y cooperativa que permite triunfar solo a los que se asocian.

Lynn Margulis

ÍNDICE

Agradecimientos	i
Dedicatoria	ii
Resumen	vi
Abstract	vii
1. Introducción	1
1.1. Interacciones hongo-bacteria	1
1.2. Movimiento microbiano	3
1.3. Carreteras fúngicas “ <i>fungal highways</i> ”	6
1.4. Toma de decisiones de hongos y bacterias durante su desplazamiento	7
1.5. Hongos y bacterias resolviendo laberintos	9
1.6. Ventilales hidrotermales de mar profundo	11
2. Antecedentes	13
2.1. Interacciones hongo-bacteria	13
2.2. Evaluación de las estrategias, comportamiento y toma de decisiones a través de un laberinto con obstáculos en hongos y bacterias	15
2.3. Estudios de interacciones hongo-bacteria en sedimentos de ventilales hidrotermales	17
3. Planteamiento del problema	18
4. Hipótesis	19
5. Objetivos	20
5.1. Objetivo general	20
5.2. Objetivos específicos	20
6. Materiales y métodos	21
6.1. Co-cultivo de hongos y bacterias aislados de ventilales hidrotermales	21

6.2. Microscopía electrónica de barrido	23
6.3. Diseño del laberinto	24
6.4. Co-cultivo en el laberinto de los microorganismos seleccionados	26
6.5. Registro y análisis fotográfico	27
6.6. Microscopía compuesta de los laberintos	28
7. Resultados	29
7.1. Microorganismos selectos	29
7.2. Desempeño de los microorganismos en los laberintos	34
8. Discusión	46
8.1 Mecanismos microbianos para lidiar con barreras físicas	46
8.2 Comportamiento microbiano en el laberinto	47
8.2.1 Bacteria	47
8.2.2 Hongo	52
9. Conclusiones	57
10. Perspectivas	58
11. Bibliografía citada	59

RESUMEN

Las carreteras fúngicas son un tipo de interacción ecológica entre hongos y bacterias que se caracteriza por el desplazamiento de las bacterias en la superficie de las hifas del hongo. Hasta donde sabemos, la formación de carreteras fúngicas no se ha reportado en sedimentos de ventilas hidrotermales. Sin embargo, en estudios del suelo, se ha observado que esta interacción es un mecanismo de dispersión esencial para las bacterias. Por lo tanto, las carreteras fúngicas pueden influir en la colonización de nichos y la obtención de nutrientes de los microorganismos que habitan en el sedimento de sitios marinos extremos como las ventilas hidrotermales de mar profundo. Este hecho, podría tener gran relevancia en la biogeografía de los microorganismos. En este trabajo, se analizó el establecimiento de carreteras fúngicas entre hongos y bacterias aislados del sedimento colectado en las ventilas hidrotermales de mar profundo de la Dorsal de Alarcón, Sur del Golfo de California. Para esto, se seleccionó a *Penicillium dodgei* y *Bacillus* sp. 10. Los microorganismos fueron evaluados en un laberinto de acrílico con cinco obstáculos espaciales: canal con un ángulo de 35°, con ángulos de 90°, serpenteante, con paredes frontales y con salida lateral a través de un registro fotográfico y microscopía. Nuestros resultados sugieren que *Bacillus* sp. 10, se adhirió a las hifas de *P. dodgei*, con ello, mejoró su dispersión a través del laberinto. Sin embargo, a través de esta asociación física, *Bacillus* sp. 10 afectó la dirección de crecimiento de *P. dodgei*. Los resultados obtenidos sugieren que esta interacción no es una carretera fúngica, sino que se trata de una interacción antagonista y conocida como “*hitchhiking*”.

ABSTRACT

Fungal highways are a type of ecological interaction between fungi and bacteria, characterized by the dispersal of bacteria on the surface of fungal hyphae. To the best of our knowledge, the formation of fungal highways has not been reported in hydrothermal vent sediments. However, in soil studies, this interaction has been shown to be an essential dispersal mechanism for bacteria. Therefore, fungal highways can influence the colonization of niches and the obtaining of nutrients by microorganisms that inhabit the sediment of extreme marine sites such as deep-sea hydrothermal vents. This could be relevant for the biogeography of microorganisms. In this work, the establishment of fungal highways between fungi and bacteria isolated from the sediment collected in the deep-sea hydrothermal vents of the Alarcón Ridge, southern Gulf of California, was analyzed. For this, *Penicillium dodgei* and *Bacillus* sp. 10 were selected. The microorganisms were evaluated in an acrylic maze with five spatial obstacles: channel with 90° angles, serpentine, frontal walls and a lateral exit. The interaction was investigated through a photographic record and microscopy. Our results suggest that *Bacillus* sp. 10, adhered to the hyphae of *P. dodgei*, thereby improving their dispersal through the maze. However, *Bacillus* sp. 10 affected the growth direction of *P. dodgei*. We conclude that the interaction is not a fungal highway, but rather an antagonistic interaction known as “hitchhiking”.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Interacciones hongo-bacteria

Los microorganismos son componentes importantes en los ecosistemas. Desempeñan roles ecológicos que influyen en las condiciones características de estos sitios, como la colonización de nichos, la disponibilidad de nutrientes, los ciclos biogeoquímicos, entre otros procesos (Deveau et al., 2018).

Los seres vivos no están aislados, pues interactúan tanto con el entorno biótico, como el abiótico. Es decir, los organismos llevan a cabo una serie de interacciones ecológicas en los ecosistemas. Éstas modifican la adecuación de los organismos generando efectos positivos, neutrales y negativos (Schulze et al., 2016). Por ello, existen diferentes clasificaciones de estas interacciones como: competencia (- / -), mutualismo (+ / +), comensalismo (+ / 0), amensalismo (- / 0) entre otras (Begon et al., 2006). Específicamente, las interacciones entre hongos y bacterias son conocidas como BFI (*bacterial-fungal interactions*) y pueden tratarse de relaciones de antagonismo hasta mutualismo (Deveau et al., 2018; Frey-Klett et al., 2011).

Las BFI se han estudiado en muchos hábitats, materiales e incluso organismos. Por ejemplo, sobre madera en descomposición, en humanos, organismos marinos y el suelo. Sin embargo, la mayor parte de las BFI se han observado y estudiado ampliamente en el suelo (Warmink & Van Elsas, 2009).

Éstas, se evalúan por el contacto físico y la secreción de metabolitos secundarios (como antibióticos y moléculas de señalización) que generan cambios en el metabolismo de los microorganismos interactuantes (Abeysinghe et al., 2020; Frey-Klett et al., 2011). Tanto hongos como bacterias pueden presentar cambios en su crecimiento, reproducción, movimiento, nutrición y patogenicidad (Deveau et al., 2018).

Las BFI influyen en el funcionamiento de los ecosistemas (Bravo et al., 2013). Esto se debe a que tanto los hongos como las bacterias son importantes en los ciclos biogeoquímicos, por lo que sus interacciones tienen un efecto en estos procesos.

Por ejemplo, en la descomposición de madera por parte de algunos hongos como *Heterobasidion araucariae*, las bacterias asociadas pueden inhibir o promover el

proceso de degradación (Murray & Woodward, 2003). Las BFI también pueden influir en la dispersión de nutrientes, ya que se ha observado que bacterias asociadas a micorrizas apoyan la meteorización mineral y mantienen disponible los iones minerales inorgánicos para los árboles (Uroz et al., 2009).

En ecosistemas acuáticos, los hongos y las bacterias son importantes para los procesos de descomposición y parece que, en su mayoría, mantienen relaciones de tipo antagonista (Frey-Klett et al., 2011). Por ejemplo, se conoce que los miembros de *Chytridiomycota* parasitan al fitoplancton (como cianobacterias y diatomeas) y de esta manera influyen en los niveles de carbono orgánico disuelto disponibles en la columna de agua para la comunidad bacteriana (Amend et al., 2019; Haraldsson et al., 2018). En ambientes marinos extremos como las ventilas hidrotermales de mar profundo, las interacciones entre hongos y bacterias recién comenzaron a conocerse. A la fecha, se han reportado interacciones variables que cambian con el tiempo y principalmente del tipo antagonista y de competencia (Hernández-Monroy, 2019).

Los hongos y las bacterias forman parte de la microbiota de muchos organismos. Por lo que las interacciones entre estos microorganismos influyen en la nutrición y salud de sus hospederos. Por ejemplo, en las asociaciones entre hongos micorrízicos y bacterias, éstas últimas son importantes para las funciones que desempeñan las micorrizas como la nutrición y promoción del crecimiento de las plantas (Bonfante & Anca, 2009). En este sentido, también encontramos endobacterias en hongos, por ejemplo, la interacción entre *Paraburkholderia rhizoxinica* y *Rhizopus microsporus*, en la que *P. rhizoxinica* concede una toxina a *R. microsporus* y facilita el proceso de parasitismo al arroz (Deveau et al., 2018). Lo que demuestra que, las BFI también pueden influir negativamente en la salud de los hospederos, causando enfermedades en plantas y animales (Frey-Klett et al., 2011).

Actualmente, se están analizando los metabolitos secundarios que se producen como resultado de las BFI para la mejora de actividades relacionadas con agricultura, procesamiento de alimentos, biotecnología, medicina entre otras (Deveau et al., 2018). Además, se continúan estudiando los efectos evolutivos en las BFI. Por ejemplo, se han reportado procesos de transferencia horizontal de genes en bacterias intra-hifales, ya que se observan cambios en el tamaño de su genoma, así como

también, cambios en algunos genes relacionados con el metabolismo en hongos (Frey-Klett et al., 2011).

Se ha hecho mención de que las BFI podrían ser parte de un concepto reciente: holobionte. Este concepto hace referencia a que los animales y las plantas ya no son entidades autónomas, sino que están conformadas por microbios simbióticos, los cuales son esenciales e influyen en la forma, función y aptitud del huésped (Bordenstein & Theis, 2015). Por lo tanto, las BFI son diversas, complejas y tienen efectos en diferentes organismos y ecosistemas.

1.2 Movimiento microbiano

Los microorganismos llevan a cabo diferentes estrategias de motilidad para conocer su entorno y encontrar condiciones óptimas para su desarrollo (Muok & Briegel, 2021). Por ejemplo, las células procariotas han desarrollado numerosos mecanismos para el movimiento, el más conocido es el uso de flagelos. En bacterias móviles, se han observado diferentes comportamientos en función del diseño, ubicación (flagelación monótrica, lofótrica, anfítrica o perítrica) y cantidad de flagelos que presenten, así como también, con la morfología celular (Chevance & Hughes, 2008; Tokárová et al., 2021; Young, 2007). Estos movimientos incluyen giros en distintos ángulos, carreras, volteretas, movimientos rápidos entre otros (Harshey, 2003; Tokárová et al., 2021).

En ambientes líquidos, se presentan diferentes movimientos, por ejemplo, el “*swimming*” (rotación de flagelos o cilios). En superficies tenemos comportamientos como: a) el “*swarming*” (en el que múltiples flagelos giran e impulsan a la célula hacia adelante), b) el “*gliding*” (consiste en un deslizamiento que ocurre por contracción y relajación de las paredes celulares), c) “*twitching*” (consiste en la extensión y retracción de pili tipo IV y ocurre dentro de biopelículas) y d) “*sliding/spreading*” (depende de la fuerza generada por una colonia en expansión, es un movimiento pasivo). Como se mencionó, estos movimientos están mediados por flagelos, pili tipo IV, nanomotores u otros procesos (Jarrell & McBride, 2008; Muok & Briegel, 2021). Además, estos comportamientos se ven afectados por factores ambientales como las propiedades físicas y químicas de la superficie de desplazamiento, viscosidad, temperatura, pH y otros procesos como la quimiotaxis o la influencia de fluidos (Mitchell & Kogure, 2006; Tokárová et al., 2021). En el proceso de quimiotaxis, las

células se mueven en dirección a una molécula atrayente como nutrientes o pueden moverse lejos de moléculas que podrían ser peligrosas para la célula (Muok & Briegel, 2021).

Los procesos por los cuales las bacterias llevan a cabo estos comportamientos se están analizando. Sin embargo, se ha descubierto dependen en gran medida de apéndices en la superficie celular (flagelos y pilis), del citoesqueleto; la mecánica de la superficie, fuerzas hidrodinámicas, estrategias adhesivas (sustancias poliméricas extracelulares), moléculas de señalización entre otros (Jarrell & McBride, 2008; Persat et al., 2015).

A través del crecimiento filamentoso, los hongos alcanzan diferentes sitios y buscan nutrientes. Las hifas presentan un crecimiento que les permite moverse para explorar el entorno, encontrar nutrientes y nuevos sitios para colonizar (Alekkett & Boddy, 2021). El proceso de crecimiento fúngico es mediado por vesículas secretoras. Estas vesículas aportan una membrana para la expansión de la punta de la hifa, así como también glicoproteínas y enzimas biosintéticas para el ensamblaje de la pared celular de quitina y glucano (Brand & Gow, 2009). Se cree que durante este proceso intervienen mecanismos de endocitosis y exocitosis (Riquelme, 2013).

A través de los microtúbulos, estas vesículas llegan a un centro ubicado en la punta de las hifas, conocido como Spitzenkörper (Brand & Gow, 2009; Steinberg, 2007; Virag & Harris, 2006). El Spitzenkörper es esencial para el mantenimiento del crecimiento apical del hongo, determina la dirección y morfología de crecimiento de las hifas. El Spitzenkörper consiste en un centro de suministro de vesículas, así como también, de ribosomas, microfilamentos de actina y material granular. Esta estructura se ha estudiado en diferentes hongos, siendo *Neurospora crassa* el principal modelo (Riquelme & Sánchez-León, 2014). En este proceso, otros complejos pueden intervenir además de los mencionados como el polarisoma y el exocisto.

El polarisoma es un complejo multiprotéico encargado del mantenimiento de la polaridad celular a través del ensamble de los filamentos de actina en los sitios de polarización (Riquelme, 2013). Estas proteínas son esenciales para marcar los sitios de crecimiento y entre ellas, tenemos a Bud1 Ras-GTPasa, Cdc42 Rho-GTPasa. Estas moléculas se encargan de reclutar actina y otros componentes (Brand & Gow,

2009) y se cree que actúa cuando la hifa responde a estímulos externos y cambia de dirección de crecimiento. Por otro lado, el exocisto es un complejo de anclaje octámero encargado del acoplamiento de vesículas a la membrana plasmática en regiones que se expanden superficialmente (Riquelme, 2013).

Como se mencionó anteriormente, las hifas perciben ciertos estímulos externos que cambian su dirección de crecimiento, como sustancias químicas, la luz, el tipo de superficies, etcétera. Estos comportamientos son conocidos como tropismos y los hongos responden a ellos de manera negativa o positiva. Algunos de ellos son quimiotropismo (crecimiento dependiente de gradientes de químicos volátiles o difusibles), gravitropismo (crecimiento dependiente de la gravedad), fototropismo (crecimiento dependiente de una fuente de luz), tigmotropismo (crecimiento dependiente del contacto con un objeto o superficie), entre otros. Por lo tanto, los hongos presentan movimientos activos, es decir, el crecimiento y desplazamiento se dirige en respuesta a ciertos estímulos, cambiando su ubicación y la redistribución de la biomasa (Alekklett & Boddy, 2021).

Es importante mencionar, que existen microorganismos inmóviles que establecen interacciones con otros organismos para poder desplazarse. Este comportamiento es conocido como “*hitchhiking*” y abarca cuatro estrategias: empuje mecánico por células móviles, unión directa a cuerpos celulares, unión directa a flagelos bacterianos y transporte interno por células (Muok & Briegel, 2021). Estos mecanismos se han observado en hongos, bacterias y protozoarios. Por ejemplo, se ha reportado que *Paenibacillus vortex*, una bacteria que se destaca por moverse en superficies duras, puede transportar a diferentes bacterias inmóviles como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter aerogenes* (Finkelshtein et al., 2015). Además, *P. vortex* puede dispersar las esporas de ciertos hongos como *Aspergillus fumigatus* (Inghama et al., 2011). Incluso se ha observado el “*hitchhiking*” entre bacterias y protistas. Por ejemplo, las Deltaproteobacterias sintetizan nanopartículas ferromagnéticas intracelulares y se adhieren a los protistas de los grupos Symbiontida y Euglenozoa, convirtiendo a los protistas en organismos magnetotácticos que transportan bacterias magnetotácticas que se mueven en respuesta a las nanopartículas (Monteil et al., 2019). Además, existen ciertas asociaciones entre hongos y bacterias en las que las hifas de los hongos pueden contribuir al desplazamiento de las bacterias conocidas

como carreteras fúngicas (*fungal highways*) (Kohlmeier et al., 2005; Warmink et al., 2011).

1.3 Carreteras fúngicas “*fungal highways*”

Dentro de las BFI, existe un interesante tipo de interacción donde las hifas del hongo permiten que las bacterias se desplacen sobre ellas. Esta interacción es conocida como carreteras fúngicas (*fungal highways*). La primera vez que se mencionó el transporte entre un hongo y una bacteria fue en 1976; Wong y Griffin encontraron que un organismo considerado en aquel entonces como un hongo (actualmente se sabe que es un protista) apoyaba el movimiento de las bacterias en el suelo. Sin embargo, fue hasta los trabajos de Kohlmeier et al. (2005) que se resaltó la importancia de las carreteras fúngicas como un mecanismo de dispersión para las bacterias edáficas (Yang & van Elsas, 2018).

Durante el establecimiento de carreteras fúngicas, las hifas de los hongos pueden transferir nutrientes y agua a las bacterias (Worrich et al., 2017), mientras que las bacterias inducen la expresión de genes para la síntesis de metabolitos secundarios en los hongos (Nutzmann et al., 2011). Para el establecimiento de esta interacción, están involucrados diferentes mecanismos. En ciertos casos, las bacterias presentan quimiotaxis hacia el hongo y es en este proceso en el que pueden intervenir componentes como los flagelos, sistema de secreción bacteriano tipo III y IV (T3SS y T4SS) (Steffan et al., 2020).

Gracias a las carreteras fúngicas, las bacterias, al adherirse a las hifas de los hongos, facilitan su dispersión, abarcan una mayor distancia, exploran el ecosistema en el que se encuentran, colonizan nuevos nichos, obtienen nutrientes, etcétera. Por ello, se cree que la formación de carreteras fúngicas consiste en una interacción comensalista, en la que las bacterias se ven beneficiadas al dispersarse por las hifas del hongo, mientras que el hongo parece mantenerse en un estado neutro, ya que la interacción que mantiene con las bacterias parece no ser esencial para su supervivencia o para su adecuación ecológica (Abeyasinghe et al., 2020).

Sin embargo, en el estudio de Abeyasinghe et al. (2020), se describió la interacción entre *Aspergillus nidulans* y *Bacillus subtilis*, y notaron que, en la formación de carreteras fúngicas, ciertos factores son importantes: la dispersión bacteriana es más

efectiva a través del hongo, los flagelos de la bacteria son esenciales para una dispersión más rápida y, además, la bacteria suministra tiamina en la punta de las hifas, aumentando el crecimiento de éstas. Por lo tanto, las carreteras fúngicas podrían tratarse también de interacciones mutualistas, en las que tanto el hongo como la bacteria podrían obtener beneficios al interactuar.

Se ha planteado que las carreteras fúngicas tienen fuerte impacto en el suelo, ya que el movimiento de las bacterias en este sitio es complicado y depende de diversas condiciones (humedad, el tamaño de los poros, conectividad de los poros de agua y aire, textura, densidad, hidrofobicidad, entre otros) (Yang & van Elsas, 2018). Por lo que la formación de carreteras fúngicas sería una ventaja para lograr su éxito ecológico (Warmink et al., 2011; Warmink & Van Elsas, 2009), pues las hifas pueden cruzar los poros de aire presentes en el suelo y, además, alrededor de las hifas se forma una película líquida que permite que las bacterias se desplacen con mayor facilidad y velocidad (Pion et al., 2013), dando como resultado que las bacterias se dispersen a mayores distancias.

Por ejemplo, se ha observado que las hifas de los hongos apoyan el movimiento activo de bacterias oxalotróficas (Bravo et al., 2013). En otros estudios se encontró que las proteobacterias se desplazan en películas de agua de las hifas que están presentes en el queso, lo que tiene gran influencia en el microbioma presente en el queso (Zhang et al., 2018).

Es importante mencionar que recientemente, se ha reportado la formación de carreras fúngicas entre hongos y bacterias que habitan sedimentos marinos costeros contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos (Álvarez-Barragán et al., 2022; Álvarez-Barragán et al., 2023), lo que incrementa el conocimiento de las BFI y las carreteras fúngicas en estos ecosistemas.

1.4 Toma de decisiones de hongos y bacterias durante su desplazamiento

Los hongos y las bacterias son organismos que se exponen a diferentes estímulos ambientales. Además, las condiciones en las que se encuentran varían y cambian en el tiempo y en el espacio. Actualmente, se ha estudiado la respuesta y toma de decisiones de estos organismos en torno a diferentes estímulos y condiciones (Alekklett & Boddy, 2021).

Hasta lo que sabemos, los estudios enfocados en el comportamiento y la inteligencia en bacterias están relacionados con la formación de colonias, comunicación, transducción de señales, plasticidad genómica, intercambio de mensajes químicos etcétera (Jacob et al., 2004). Sin embargo, también encontramos estudios relacionados con las estrategias de percepción del entorno por parte de las bacterias (Marijuán et al., 2010), la influencia de señalización eléctrica en las biopelículas bacterianas (Majumdar & Pal, 2017) y la respuesta bacteriana a señales electromagnéticas (Jacob et al., 2004).

A través de estos estudios, se han revelado diferentes mecanismos por los cuales las bacterias se comunican, presentan diferentes comportamientos/estrategias e inteligencia. Por ejemplo, para la formación de colonias, las bacterias se comunican químicamente. Además, la cooperación entre las bacterias incluye diferentes mecanismos como la morfogénesis de la colonia que requiere de una expresión génica coordinada, diferenciación regulada, división de tareas entre otros procesos. Para ello, las bacterias pueden utilizar diferentes agentes bioquímicos (Jacob et al., 2004). Estos agentes bioquímicos resultan ser importantes ya que pueden mediar la interacción célula-célula bacteriana entre colonias de diferentes especies y de otros organismos (Valenzuela et al., 2007).

Es importante mencionar que a través de estos agentes, las bacterias también pueden llevar a cabo la toma de decisiones colectivas (esporulación durante la formación de colonias), formación de cuerpos fructíferos (por ejemplo, *Myxococcus xanthus* forma cuerpos fructíferos) establecer una organización jerárquica cooperativa (por ejemplo, *P. vortex* forma módulos para organizar su colonia) (Jacob et al., 2004), desplazamiento por superficies a partir de la secreción químicos para que puedan nadar, regulación del proceso de quimiotaxis con base en los nutrientes disponibles, alteraciones de estado genómico (*Paenibacillus dendritiformis* puede presentar dos morfologías coloniales con base al tipo de sustrato en el que se cultiva), resistencia a antibióticos (desarrollo de patrones coloniales diferentes) (Jacob et al., 2004), sistemas de señalización en respuesta a diferentes condiciones ambientales (Marijuán et al., 2010), entre otros.

Las hifas de los hongos permiten que estos exploren su entorno y se alimenten a través de la secreción de enzimas para descomponer moléculas y posteriormente

puedan absorberlas (Alekklett & Boddy, 2021). El micelio presenta movimiento, pues es una estructura dinámica y receptiva que cambia su ubicación con base al crecimiento y la distribución de biomasa en respuesta a estímulos (Boddy, 1999; Boddy et al., 2010).

Además, el micelio presenta una capacidad de navegación y una conciencia celular, ya que factores ambientales como la disponibilidad y distribución de nutrientes o la presencia de algún peligro como sustancias tóxicas o depredadores alteran el movimiento de las hifas y translocaciones de biomasa. Incluso, los hongos podrían encontrar otras hifas de la misma especie o un huésped ideal a través de la quimiotaxis (Bielčik et al., 2019). También se conoce que los hongos presentan mecanismos de reparación de daño en las hifas (como los ascomicetos filamentosos que usan los cuerpos de Woronin para sellar las hifas después de un daño) y detectan crestas de las superficies y restricciones del espacio físico (Money, 2021).

A través de diferentes estudios relacionados con estructuras microfluídicas, microcosmos de suelo y sistemas de micelio, se ha demostrado que estos organismos presentan cognición, comunicación y memoria (Alekklett & Boddy, 2021). Por ejemplo, se ha observado que hongos basidiomicetos específicamente *Phanerochaete velutina*, presentan diferentes comportamientos para la toma de decisiones ante nuevos recursos, dependiendo del tamaño del nuevo recurso. Además, se demostró su memoria direccional (Fukasawa et al., 2020). Durante la interacción con otros organismos, los hongos llevan a cabo procesos de comunicación a través de moléculas señalizadoras como hormonas, péptidos pequeños, alcoholes, lípidos y compuestos volátiles. Gracias a estos procesos, los hongos colonizan un huésped, controlan cambios morfogenéticos (levadura a micelio), manipulan a otros organismos, atraen insectos para propagar sus esporas, entre otros comportamientos (Alekklett & Boddy, 2021).

1.5 Hongos y bacterias resolviendo laberintos

Para estudiar la movilidad de diferentes microorganismos e incluso la migración de células por tejidos, se han construido laberintos en los cuales se busca representar diferentes barreras espaciales para analizar la toma de decisiones y los procesos de quimiotaxis que les permiten desplazarse. Tal es el caso de los estudios enfocados

en *Physarum polycephalum* para encontrar alimento y salidas a través de la elaboración de un laberinto, y los estudios en *Dictyostelium discoideum* y en células de cáncer de páncreas de ratón con el propósito de identificar si a través de quimioatrayentes pueden resolver laberintos (Nakagaki et al., 2000; Tweedy et al., 2020).

Específicamente, para analizar la motilidad y cooperación en bacterias, se han llevado a cabo estudios en agar a diferentes concentraciones, con el fin de observar la dispersión de las células bacterianas con relación a la hidratación del medio en el que se encuentren (Pion et al., 2013). Sin embargo, también se han elaborado dispositivos de microfluidos de polidimetilsiloxano (PDMS) con diseños de obstáculos como cámaras con grandes espacios, canales con diferentes anchos, canales con salidas laterales en varios ángulos y canales serpenteantes con diferentes anchos (Tokárová et al., 2021). El PDMS es un material transparente, permite los estudios de microscopía y es permeable al O₂. Por estas características, los dispositivos de microfluidos, se han utilizado para evaluar el comportamiento de bacterias, células vegetales y hongos (Held et al., 2019). Además, los dispositivos de microfluidos han permitido analizar el proceso de quimiotaxis de manera cualitativa y cuantitativa para identificar las respuestas de las bacterias (Zhou et al., 2019) por lo que su uso está aumentando.

Gracias a estos trabajos, se ha observado el efecto de la hidrodinámica, nanomecánica, los flagelos y las superficies, en los diferentes movimientos bacterianos (Tokárová et al., 2021).

Para analizar el comportamiento, decisiones y estrategias de desplazamiento de los hongos, se han utilizado diferentes herramientas. A una mayor escala, el crecimiento fúngico se ha estudiado a través de experimentos de microcosmos en el suelo. Éstos consisten en muestras de suelo no estéril, heterogéneo y tamizado. En este tipo de estudios, se ha observado la conducta de los hongos durante la búsqueda de recursos (Alekklett & Boddy, 2021; Boddy, 1999). También se utilizan sistemas de micelio en los que se colocan recursos en el campo para estudiar el comportamiento del hongo (Alekklett & Boddy, 2021; Dowson et al., 1989).

Para estudiar las estrategias de crecimiento y desplazamiento en hongos a microescala, se han llevado a cabo dos métodos principalmente. El primero consiste en superficies planas de agar, sin embargo, se considera que esta herramienta no permite evaluar el comportamiento de crecimiento de los hongos como es realmente en la naturaleza, es decir, en espacios reducidos, difíciles de recorrer y con ciertos obstáculos o dificultades (Held et al., 2019). Actualmente, se elaboran dispositivos de microfluidos con PDMS. Estos dispositivos buscan imitar las condiciones restrictivas a las cuales se enfrentan los hongos en los ecosistemas en los que se encuentran. En estas herramientas, se diseñan una serie de obstáculos que conforman un laberinto. Algunos de estos son obstáculos con ángulos agudos, paredes frontales, canales con geometrías restringidas que incluyen canales con y sin salidas laterales y canales serpenteantes (Held et al., 2019).

1.6 Ventilias hidrotermales de mar profundo

Las ventilias hidrotermales de mar profundo consisten en aguas termales submarinas que se localizan a lo largo de un sistema global de dorsales oceánicas. Estos sitios se localizan entre los 500 y 4000 m. Sus fluidos tienen temperaturas entre 350-405 °C, y están enriquecidos con metales pesados como el hierro (Fe), manganeso (Mg), cobre (Cu), zinc (Zn), plomo (Pb), cobalto (Co), aluminio (Al), cadmio (Cd), plata (Au), litio disuelto, potasio (K), cesio (Cs), berilio (Be), calcio (Ca), boro (B), arsénico (As), selenio (Se), bario (Ba) y rubidio (Rb); los gases más abundantes son el metano y el hidrógeno y el pH se encuentra entre 2 a 5.9 (Soto & Estradas, 2013). Estos ecosistemas, se caracterizan por presentar una fauna bentónica que establece relaciones simbióticas con procariontes quimiosintéticos (Brazelton, 2017). Estos microorganismos son los productores primarios del ecosistema, e incluye representantes de los grupos Aquificae, Archaeoglobi, Thermococci, Deltraproteobacteria, Epsilonproteobacteria y Gammaproteobacteria (Dick, 2019; Espinosa-Asuar et al., 2020).

A partir de 1979, el estudio de los sistemas hidrotermales aumentó en México debido a la descripción de una solfatara submarina en la dorsal Rivera a 2500 m de profundidad, cerca de las costas de Nayarit. Posteriormente, en 1982, fueron descubiertas las ventilias de la cuenca de Guaymas a 2000 m de profundidad (Pantoja Alor & Gómez Caballero, 2004). Recientemente se descubrieron las ventilias

hidrotermales de la Cuenca de Pescadero, la Falla Transformante de Pescadero y la Dorsal de Alarcón al sur del Golfo de California, a través de expediciones realizadas por el Instituto de Investigación del Acuario de la Bahía de Monterey (MBARI) en el Golfo de California. Desde entonces, se han mapeado estas zonas y analizado a detalle estas zonas (Paduan et al., 2018).

Además, se ha investigado a los organismos que habitan estos sitios. Por ejemplo, Goffredi et al. (2017), analizaron la macrofauna y estructura trófica presente en estos sitios, aportando más detalles de la dinámica ecológica (Salcedo et al., 2019, 2021).

La comunidad microbiana que se encuentra presente en los sedimentos de estas ventilas hidrotermales de mar profundo también se ha ido describiendo. Recientemente se investigó la diversidad bacteriana y fúngica de estos sitios, así como también su dinámica y roles ecológicos (Espinosa-Asuar et al., 2020; Velez et al., 2022). Con respecto a las interacciones ecológicas entre hongos y las bacterias que se encuentran en los sedimentos de estas ventilas, Hernández-Monroy (2019, 2023) reportó principalmente relaciones de competencia y antagonismo; así como también, encontró que, en estas interacciones, se llevan a cabo procesos relacionados con la síntesis de moléculas para la defensa y reparación, lo que confirma una competencia entre estos grupos.

Hasta lo que sabemos, la formación de carreteras fúngicas aún no se ha reportado en los sedimentos de ventilas hidrotermales de mar profundo. Cabe mencionar, que la dispersión bacteriana en estos sedimentos podría verse limitada por diferentes motivos como: la profundidad (limita la entrada de carbono orgánico de la superficie y transporte de recursos) y el tamaño de las partículas de sedimento (los poros pequeños dificultan el movimiento, transporte de nutrientes, espacio etcétera). Por estas condiciones, las BFI que se establecen en los sedimentos de las ventilas hidrotermales de mar profundo, podrían formar carreteras fúngicas (Rebata-Landa & Santamarina, 2006).

2. ANTECEDENTES

2.1 Interacciones hongo-bacteria

Las BFI se han estudiado desde diferentes perspectivas. En los últimos años, se han estudiado ampliamente para fines relacionados con la agricultura, salud y ecología.

A partir del estudio de las BFI, se ha buscado determinar las características del comportamiento colectivo de hongos y bacterias para la supervivencia, analizar con mayor detalle la producción de metabolitos secundarios que pueden tener uso como fármacos, fungicidas, prebióticos entre otros, además de la dispersión de los organismos interactuantes a otros lugares y los mecanismos implicados en estas interacciones (Steffan et al., 2020). Por ejemplo, la asociación y formación de biopelículas entre hongos y bacterias se está estudiando debido a la importancia que pueden tener en ciertas infecciones o dispositivos médicos (Frey-Klett et al., 2011).

Fue 1976, cuando se reportó por primera vez un fenómeno parecido a las carreteras fúngicas. Se observó la propagación de *B. subtilis* en la película de agua de un organismo que anteriormente era considerado un hongo, pero actualmente se reconoce que es un protista: *Pythium ultimum* (Wong & Griffin, 1976). En 2005, se investigó la capacidad de los hongos *Fusarium oxysporium* y *Rhexocercosporidium* sp. para transportar a las bacterias *Achromobacter* sp. SK1, *Mycobacterium frederiksbergense* LB501TG y *Sphingomonas* sp. L138, las cuales son degradadoras de hidrocarburos aromáticos policíclicos en agar y columnas rellenas de vidrio. En este estudio se observó que los hongos pueden contribuir al movimiento de las bacterias degradadoras de ciertos contaminantes en el suelo. Por ejemplo, *Achromobacter* sp. SK1 se movió eficientemente en las hifas de *F. oxysporium* en ambos modelos utilizados. Sin embargo, en el micelio de *Rhexocercosporidium* sp., ninguna de las bacterias se movilizó en agar, mientras que, en columnas rellenas de vidrio, *Achromobacter* sp. SK1 se movilizó. Los microorganismos que están llevando a cabo la interacción definen las características del desplazamiento, y se sugiere que esta interacción podría ser una posible alternativa para la biorremediación (Kohlmeier et al., 2005).

Se ha identificado que bacterias oxalotróficas como *Stenotrophomonas*, *Achromobacter*, *Lysobacter*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Cohnella* y *Variovorax*

pueden dispersarse sobre el hongo *Trichoderma* sp. Para demostrar esto, el hongo fue inoculado en el lado izquierdo de la caja Petri que contenía agar malta, mientras que las bacterias fueron inoculadas en el centro, el cual contenía agar nutritivo. Se elaboró una separación de 2 mm y posteriormente, se encontraba medio Schlegel AB-Caox, un medio oxalotrófico y que promovería la interacción entre estos organismos (Bravo et al., 2013).

Se ha reportado la formación de carreteras fúngicas entre el hongo *A. nidulans* y la bacteria *B. subtilis*. En este trabajo se resalta que las carreteras fúngicas pueden tratarse de interacciones mutualistas, pues *B. subtilis* administró tiamina a la zona apical de las hifas, promoviendo su crecimiento y, dando como resultado, que, a través de los flagelos, las bacterias pudieran dispersarse sobre las hifas del hongo (Abeysinghe et al., 2020). Por lo que la formación de carreteras fúngicas puede tener efectos en la adecuación tanto del hongo como de la bacteria en interacción.

En otro estudio, se demostró que bacterias integrantes del microbioma de la corteza del queso (e.g. *Serratia proteomaculans*), se movilizan a través de las capas de agua que están en las hifas de los hongos filamentosos. Esta interacción sería importante para definir la estructura del microbioma. Además, se menciona que mecanismos genéticos como el movimiento mediado por los flagelos, está implicado en esta interacción (Zhang et al., 2018). La formación de carreteras fúngicas podría ser esencial en diferentes ámbitos como, la industria alimenticia, pues podría determinar la comunidad microbiana de los alimentos fermentados.

Es importante mencionar, que, en otros estudios, se han incorporado diferentes herramientas para evaluar las BFI. Por ejemplo, se ha identificado que *Mortiella elongata* AG77 y *Burkholderia* BT03 mantienen una interacción simbiótica a través del intercambio de metabolitos como los ácidos orgánicos fúngicos. Ambos organismos promueven su crecimiento y están presentes en *Populus* sp. Esto fue identificado a partir de cultivos, dispositivos de microfluidos y metabolómica (Uehling et al., 2019).

Con respecto a los ecosistemas marinos, las carreteras fúngicas continúan estudiándose. Sin embargo, recientemente se ha reportado que *Alternaria destruens* F10.81 y *Fusarium pseudonygamai* F5.76, tienen la capacidad de transportar bacterias en presencia de pireno; además se demostró que *A. destruens* F10.81

selecciona bacterias anaerobias y aerobias para su transporte. Este estudio tuvo como objetivo analizar si hongos aislados de sedimento costero contaminado con hidrocarburos aromáticos policíclicos podían transportar bacterias aisladas de sedimentos con alto contenido de hidrocarburos. Las bacterias seleccionadas para este estudio fueron: *Pseudomonas* sp. (número de cepa B1), *Bacillus* sp. (número de cepa B2) *Bacillus* sp. (número de cepa B3), *Vibrio anguillarum* (número de cepa B4), *Vibrio anguillarum* (número de cepa B5), *Pseudomonas* sp. (número de cepa B6), *Bacillus* sp. (número de cepa B7) y *Exiguobacterium* sp. (número de cepa B8). Este estudio es relevante, ya que reporta la formación de carreteras fúngicas en ecosistemas marinos y su uso potencial para la biorremediación (Álvarez-Barragán et al., 2022; Álvarez-Barragán et al., 2023).

2.2 Evaluación de las estrategias, comportamiento y toma de decisiones a través de un laberinto con obstáculos en hongos y bacterias

Las estrategias y comportamiento que presentan las bacterias para su supervivencia son variadas, y los mecanismos implicados en estos procesos (por ejemplo; *quorum sensing*, quimiotaxis e intercambio de plásmidos) se han estudiado ampliamente. Por ello se considera que estos microorganismos presentan una inteligencia social (Jacob et al., 2004). Además de las bacterias, los hongos son organismos que, en los últimos años, han demostrado diferentes comportamientos que hacen referencia a inteligencia y conciencia (Money, 2021).

Recientemente, se analizó la motilidad de cinco bacterias: *Vibrio natriegens*, *Magnetococcus marinus*, *Pseudomonas putida*, *Vibrio fischeri* y *E. coli* a través de diferentes obstáculos elaborados en dispositivos de microfluidos. Este estudio permitió comparar el comportamiento de las bacterias ante estos obstáculos y relacionar este comportamiento con la arquitectura flagelar de cada especie (Tokárová et al., 2021).

Los hongos exhiben comportamientos como la cognición, la comunicación y la memoria (Alekklett & Boddy, 2021). Se sabe que los hongos fortalecen el micelio para la búsqueda de nuevos recursos, eliminar el micelio no conectado, abandonar algún recurso, y son capaces de redirigir los nutrientes (Andrews, 1995).

Se ha demostrado que *P. velutina*, inoculado en un bloque de madera, puede memorizar la ubicación de otro bloque de madera utilizado como cebo, ya que cuando

se separa el inóculo del cebo, *P. velutina* tiende a crecer del lado en el que el cebo fue colocado anteriormente (Fukasawa et al., 2020). Dentro de este proceso de decisión y memoria, están implicados diferentes mecanismos y componentes intracelulares como el Spitzenkörper, el citoesqueleto, el proceso de construcción de las hifas, los gradientes de concentración de osmolitos entre otros. Para estudiar este proceso, se han utilizado dispositivos de microfluidos elaborados con PDMS. El organismo *N. crassa* es uno de los organismos más estudiados en este dispositivo. A través de su estudio se ha observado que cuando la hifa entra en contacto con diferentes obstáculos, el Spitzenkörper se desplaza del centro de la hifa hacia la dirección que presente el obstáculo, incluso en algunos casos, la hifa presenta un proceso de ramificación. Además de reportar mecanismos relacionados con la memoria direccional (Held et al., 2019).

Gracias a estas herramientas, se han detectado las respuestas ante diferentes barreras espaciales de hongos como *N. crassa* y *Armillaria mellea* los cuales presentaron diferencias en su crecimiento. Sin embargo, todos lograron resolver todas las estructuras evaluadas (Held et al., 2009). También se han evaluado el efecto del confinamiento y disponibilidad de nutrientes en el crecimiento de los hongos *N. crassa* y *Talaromyces helicus* (Baranger et al., 2020) y el comportamiento entre *Pycnoporus cinnabaris* y *N. crassa* en espacios restringidos y en espacios planos (Asenova et al., 2016; Hanson et al., 2006; Held et al., 2019). Además, se han evaluado el crecimiento y la ramificación a través de un dispositivo de microfluidos con cuatro patrones de laberintos para catorce hongos filamentosos: *Trametes versicolor*, *A. nidulans* A850, *Rhizopus stolonifer* (NRRL 66455), *N. crassa*, *A. fumigatus*, *A. fumigatus* Hook KO, *A. nidulans* AYR32, *A. fumigatus* (aislado clínicamente), *R. microsporus* (aislado clínicamente), *Metarhizium anisopliae*, *A. fumigatus* 293, *Cryptococcus neoformans* (K99alpha), *Magnaporthe oryzae* (B157) y *Magnaporthe oryzae* dam1Δmutant; esta competencia es conocida como las "Olimpiadas de Hongos". A través de este trabajo, se detectaron dos estrategias: ramificación de alta frecuencia (exploración de todos los caminos posibles) y ramificación de baja frecuencia (se exploran pocos caminos posibles) (Hopke et al., 2021).

2.3 Estudios de interacciones hongo-bacteria en sedimentos de ventilas hidrotermales

Las ventilas hidrotermales de mar profundo son sitios que se caracterizan por presentar condiciones muy extremas como oscuridad permanente, altas temperaturas y presión hidrostática, altas concentraciones de metales pesados etcétera (Espinosa-Asuar et al., 2020; Soto & Estradas, 2013). Específicamente en la Cuenca de Pescadero, la Falla Transformante de Pescadero y la Dorsal de Alarcón recién comienzan a conocerse detalles respecto a la comunidad y dinámicas de los organismos que se encuentran en estos sitios.

La comunidad microbiana de estas zonas aún está estudiándose. En el caso de las bacterias presentes en el sedimento, a través del uso de secuenciación Illumina de amplicones del gen 16S ARNr, se ha estudiado la diversidad, reportando que Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Chloroflexi y Epsilonbacteraeota son los filos más abundantes (Espinoza et al., 2020). Con respecto a la comunidad fúngica, se ha explorado su diversidad en los sedimentos de estas ventilas hidrotermales utilizando secuenciación Illumina de alto rendimiento de la región ITS1 descubriendo que los grupos Ascomycota, Basidiomycota y linajes no cultivables son los más abundantes (Velez et al., 2022).

El estudio de las interacciones entre bacterias y hongos aislados en sedimentos de ventilas hidrotermales de estos sitios se ha realizado por Hernández-Monroy, (2019). En este estudio, se identificaron bacterias y hongos provenientes de los sedimentos de estas ventilas mediante el análisis del gen 16S ARNr y la región ITS-5.8S-ITS4 respectivamente y se llevaron a cabo bioensayos de interacción pareada. De ello, se observó mayormente la presencia de hongos del género *Aspergillus* y en el caso de bacterias, *Bacillus* fue el género principal. Además, se observó un mayor número de interacciones de competencia y antagonismo (Hernández-Monroy, 2019). Además, a través de transcriptómica comparada, se estudiaron diferencias en la regulación de la expresión génica durante la interacción entre *Aspergillaceae* sp. y *Eurotiales* sp. y *Bacillus* sp. encontrando que los organismos llevan a cabo mecanismos como la micofagia bacteriana, adhesión, liberación de micotoxinas y antimicrobianos entre otros (Hernández-Monroy, 2023).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se han observado diferentes comportamientos relacionados con el crecimiento y desplazamiento microbiano (hongos y bacterias). Estos, están mediados principalmente por la disponibilidad de nutrientes, interacciones con otros organismos o la presencia de obstáculos. Sin embargo, estos aspectos son difíciles de identificar y analizar. Comúnmente, los comportamientos microbianos, y el efecto de las BFI se estudian en dispositivos microfluídicos o placas Petri con agar. Para observar estos comportamientos a mayor escala, la elaboración de un laberinto (10 x 10 cm) con diferentes obstáculos como ángulos de 35°, ángulos de 90°, canales serpenteantes, paredes frontales y salidas laterales permitirá identificar las estrategias de desplazamiento de hongos y bacterias en interacción y su dispersión.

Las carreteras fúngicas son BFI estudiadas frecuentemente en suelos. Esta interacción es esencial para la adecuación de los organismos interactuantes e influye en las condiciones del sitio en el que se encuentran. Hasta donde sabemos, se desconoce si las carreteras fúngicas se establecen en el sedimento de ambientes marinos extremos como las ventilas hidrotermales de mar profundo. Estudiar esta interacción, permitirá conocer si hongos y bacterias aislados de sedimentos de ventilas hidrotermales pueden desplazarse en conjunto y si este mecanismo pudiera tener relación con la distribución y adecuación de los microorganismos y nutrientes en estos sitios.

4. HIPÓTESIS

Las carreteras fúngicas podrían ser un mecanismo de dispersión esencial para las bacterias que se encuentran en el sedimento de ventilas hidrotermales de mar profundo del sur del Golfo de México. Este tipo de interacción podría explicar la dispersión de microorganismos y nutrientes en estos sitios.

A través del diseño y construcción de un laberinto (10 x 10 cm) con diferentes características (canales con ángulos agudos, ángulos de 90°, serpenteantes, paredes frontales y salidas laterales), los mecanismos y estrategias de dispersión de bacterias y hongos en interacción serán observados con mayor detalle. Dado que, en las carreteras fúngicas, las bacterias viajan a través de las hifas, se espera que, a través del establecimiento de la interacción, los microorganismos superen los cinco obstáculos establecidos en conjunto. Con base en las observaciones obtenidas en experimentos con PDMS, se espera que:

- En canales con ángulos de 35°: se espera que el hongo crezca siguiendo la superficie que presenta un ángulo de inclinación de 35° y posteriormente retomará su dirección de crecimiento inicial.
- En canales con ángulos de 90°: se desconoce la respuesta del hongo, por lo que esperamos conocer su estrategia ante esta superficie.
- Canal serpenteante: se espera que el hongo siga el patrón de los canales serpenteantes.
- Canal con paredes frontales: se espera que las hifas del hongo se ramifiquen en dos partes al encontrarse con la pared frontal.
- Canales con salida lateral: se espera que las hifas del hongo se ramifiquen al encontrarse con la salida lateral.

Por lo que esperamos observar la formación de carreteras fúngicas entre hongos y bacterias aislados de sedimentos de ventilas hidrotermales y la resolución de un laberinto que simula diferentes obstáculos.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar las estrategias de desplazamiento *in vitro* empleadas por aislados fúngicos y bacterianos de ventilas hidrotermales en mono- y co-cultivos a través de un laberinto.

5.2 Objetivos específicos

- Seleccionar un par de microorganismos que promueven su desplazamiento en co-cultivo.
- Diseñar una estructura con obstáculos (laberinto) en placas de acrílico.
- Identificar las diferentes estrategias de desplazamiento de los organismos en mono- y co-cultivo dentro de un laberinto de acrílico.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Co-cultivo de hongos y bacterias aislados de ventilas hidrotermales

A partir de la exploración realizada en el año 2015 a bordo del buque oceánico *Western Flyer*, se obtuvieron muestras de núcleos de sedimento de las ventilas hidrotermales del Sur del Golfo de California, en la Cuenca de Pescadero, la Falla Transformante de Pescadero y la Dorsal de Alarcón. Los organismos aislados para este estudio fueron obtenidos por Hernández-Monroy (2019) y se encuentran resguardados en la colección del Laboratorio de Ecología Molecular de Micromicetes del Instituto de Biología de la Universidad Autónoma de México.

Se seleccionaron cuatro hongos y cuatro bacterias para llevar a cabo 16 interacciones. Los hongos seleccionados corresponden a *Penicillium dodgei*, *Aspergillus* sp. 4, *Aspergillaceae* sp. y *Aspergillus cejpui*, mientras que las bacterias seleccionadas son *Bacillus* sp. 2, *Bacillus* sp. 10 (Falla Transformante de Pescadero), *Bacillus* sp. 10 (Dorsal de Alarcón) y *Bacillus* sp. 1 con base al trabajo de Hernández-Monroy (2019). Se verificó que los organismos presentaran un abundante crecimiento y establecieran una interacción cercana. Estas condiciones fueron seleccionadas con base al trabajo de Hernández-Monroy (2019) en el que se reportan diferentes tipos de interacciones entre hongos y bacterias aislados del sedimento de las ventilas hidrotermales del sur del Golfo de California (Tabla 1 y tabla 2).

Para verificar la formación de carreteras fúngicas, se siguió la metodología utilizada en el trabajo de Bravo et al. (2013) con modificaciones. Se preparó medio de cultivo GYPS (*Glucose, Yeast extract, Peptone, Starch, Sea salts*) que contiene por litro: 1 g de glucosa, 1 g de extracto de levadura, 1 g de peptona, 1000 mL de caldo de papa y 19.38 g de sal marina. Este medio es ideal para el crecimiento de los microorganismos que se encuentran en ventilas hidrotermales (Burgaud et al., 2009; Le Calvez et al., 2009). El medio de cultivo fue vaciado en dos tipos de cajas Petri con el fin de evaluar de qué manera, los hongos y las bacterias podían desplazarse.

Tabla 1. Hongos aislados de sedimento colectado en las ventilas hidrotermales del sur del Golfo de California y seleccionados para el experimento.

Clave de los organismos	Identificación	Localidad	Observaciones con base a lo reportado en Hernández-Monroy (2019) y (2023)
P	<i>Penicillium dodgei</i>	Dorsal de Alarcón	Mantiene interacciones de competencia pasiva con <i>Bacillus</i> sp. 2, comensalismo con <i>Bacillus</i> sp. 10 y amensalismo con <i>Bacillus</i> sp. 1.
W	<i>Aspergillus</i> sp. 4	Falla Transformante de Pescadero	Mantiene interacciones de antagonismo con <i>Bacillus</i> sp. 2 y <i>Bacillus</i> sp. 10 (micofagia), y amensalismo con <i>Bacillus</i> sp. 1.
H	<i>Aspergillaceae</i> sp.	Dorsal de Alarcón	No hay datos.
R	<i>Aspergillus cejpaii</i>	Dorsal de Alarcón	No hay datos.

Tabla 2. Bacterias aisladas del sedimento de las ventilas hidrotermales del sur del Golfo de California y seleccionados para el experimento.

Clave de los organismos	Identificación	Localidad	Observaciones con base a lo reportado en Hernández-Monroy (2019) y (2023)
1.11	<i>Bacillus</i> sp. 2	Cuenca de Pescadero	Mantiene interacciones de competencia pasiva con <i>Penicillium dodgei</i> y antagonismo con <i>Aspergillus</i> sp. 4.
3.7	<i>Bacillus</i> sp. 10	Falla Transformante de Pescadero	No hay datos.
9.4	<i>Bacillus</i> sp. 10	Dorsal de Alarcón	Mantiene una interacción de comensalismo con <i>Penicillium dodgei</i> y antagonismo (micofagia) con <i>Aspergillus</i> sp. 4.

5.9	<i>Bacillus</i> sp. 1	Falla Transformante de Pescadero	Mantiene interacciones de amensalismo con <i>Penicillium dodgei</i> y con <i>Aspergillus</i> sp. 4.
-----	-----------------------	----------------------------------	---

Las primeras cajas, se caracterizaban por contener una pared divisoria en la mitad (pared). El segundo tipo de cajas, presentaban una separación de 5 mm en el medio de cultivo que se realizó utilizando un bisturí, procurando que la separación fuera exactamente por la mitad de la caja Petri (fosa).

Se inoculó el hongo a 5 mm de distancia del lado izquierdo de la separación. El inóculo del hongo consistió en un cubo de 25 mm³. Para inocular a la bacteria, se elaboró una dilución de bacterias en solución salina al 0.7 % de cada bacteria. Para verificar que la densidad celular de las muestras fuera igual, se revisó si la absorbancia de las muestras correspondía a 0.100 (DO 600nm) con el uso del NanoDrop. Posteriormente, se tomaron 4 µL de las soluciones con bacteria y se colocaron a 5 mm de distancia del inóculo del hongo. Repetimos este proceso para cada bacteria.

En total, se obtuvieron 16 interacciones hongo-bacteria en dos tipos de cajas: con pared y fosa. Cada una de estas interacciones se realizó con duplicado, contando con dos controles negativos por tipo de caja.

El crecimiento se observó por tres semanas, procurando analizar si tanto el hongo como la bacteria en interacción podían cruzar la separación de las cajas. Los co-cultivos se colocaron en un lugar a temperatura ambiente y en total oscuridad, buscando imitar las condiciones que caracterizan a las ventilas hidrotermales.

Con base a las observaciones obtenidas, se seleccionó el hongo *P. dodgei* y la bacteria *Bacillus* sp. 10 provenientes del sedimento de la Dorsal de Alarcón para los experimentos posteriores.

6.2 Microscopía electrónica de barrido

Para confirmar la formación de carreteras fúngicas entre el hongo y la bacteria seleccionados, procedimos a utilizar microscopía de barrido. Con base a la metodología utilizada en el trabajo de Velez et al. (2018), en un portaobjetos estéril, se añadió 30 µL de medio GYPS. Posteriormente, se co-inocularon el hongo y la

bacteria seleccionados en el portaobjetos. Este proceso se llevó a cabo por duplicado. Los portaobjetos se colocaron en cámaras húmedas estériles durante 72 horas, con el fin de evitar que el medio presentara desecación.

Los organismos se fijaron en solución de glutaraldehído al 2% durante 24 horas, se enjuagaron dos ocasiones con agua destilada y se deshidrataron en etanol al 30%, 60%, 90% y 96%. Finalmente se recubrieron con oro paladio y se examinaron en microscopio electrónico de barrido. Las muestras fueron observadas en el microscopio electrónico de barrido marca Hitachi modelo SU1510 en el Laboratorio de Microscopía y Fotografía de la Biodiversidad I.

6.3 Diseño del laberinto

Diseñamos un laberinto tomando en cuenta los trabajos realizados por Held et al. (2019) y Tokárova et al. (2021) en el que se diseñaron una serie de obstáculos para evaluar el comportamiento, estrategias y toma de decisiones de un hongo y bacterias respectivamente (Figura 1).

Se tomaron en cuenta 5 diferentes obstáculos. Estos obstáculos fueron seleccionados con el fin de comparar si las estrategias que se han reportado eran realizadas por los organismos seleccionados en nuestro trabajo, así como también para identificar y comparar las estrategias de hongos y bacterias en interacción al enfrentarse a estos obstáculos.

1. Ángulo de 35°: inicialmente, es un canal recto que posteriormente presenta una salida con una inclinación de 35°.
2. Ángulo de 90°: consiste en un canal recto con una salida en un ángulo de 90°.
3. Canal serpenteante: consiste en un segmento compuesto por estructuras en forma de diamante/rombo distribuidas de forma diagonal.
4. Pared frontal: consiste en la construcción de un canal en el que adelante se encuentra una pared y a los lados hay dos salidas. También se incluye un canal recto con dos salidas en forma diagonal.
5. Salida lateral: canal recto con una salida lateral en ángulo de 90°. El canal recto continúa después de la salida lateral (Figura 2).

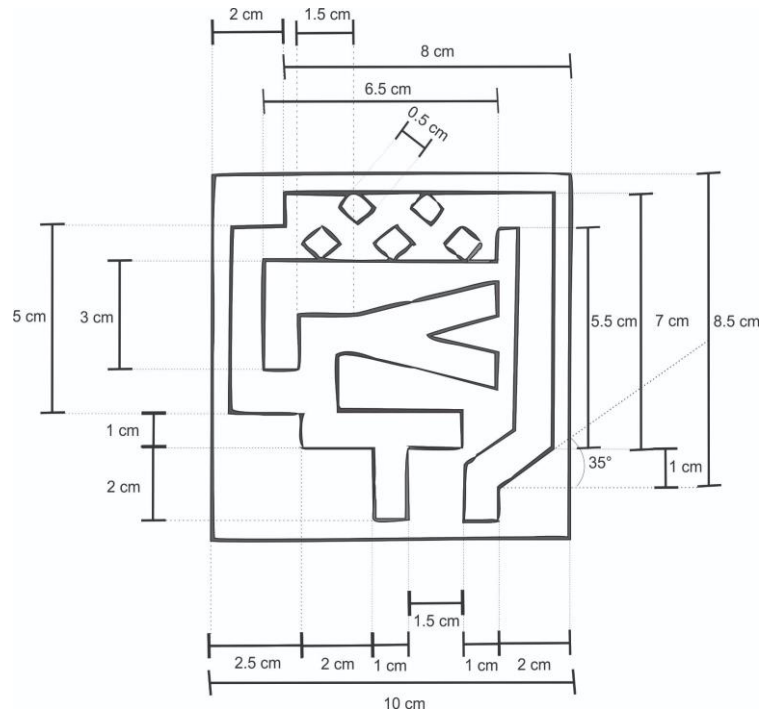


Figura 1. Diseño y medidas del laberinto de acrílico con cinco obstáculos para evaluar las estrategias de desplazamiento y crecimiento de hongos y bacterias en interacción.

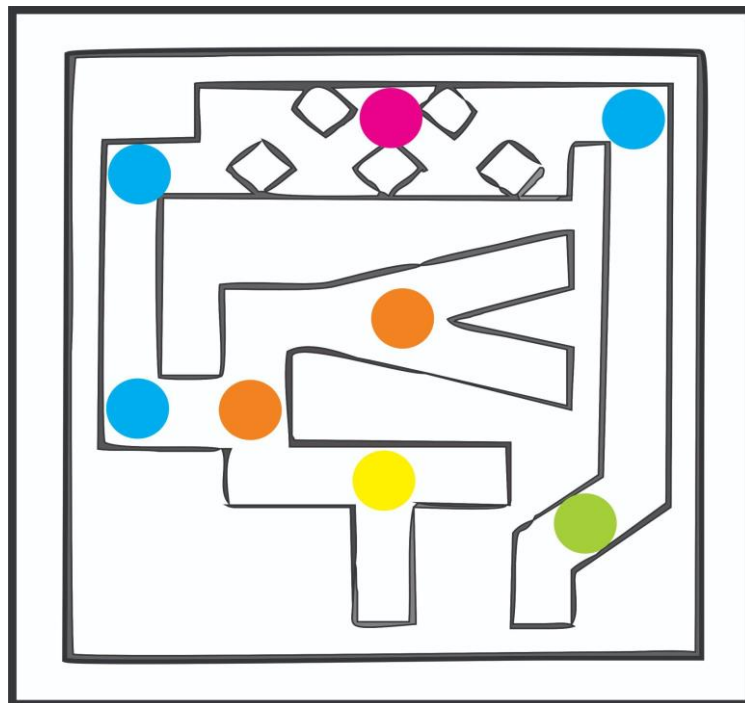


Figura 2. Obstáculos colocados en el laberinto de acrílico. El color verde corresponde a un canal con un ángulo de 35°. El color azul, corresponde a espacios con ángulos de 90°. El color rosa corresponde a un canal serpenteante. El color naranja corresponde a un canal con una pared frontal. El color amarillo corresponde a un canal recto con una salida lateral.

Se seleccionó acrílico transparente (polimetilmetacrilato-PMMA) para elaborar los laberintos. Este material se caracteriza por ser transparente y soportar temperaturas hasta los 200°C, de acuerdo con los Fundamentos de manufactura moderna (Groover, 1997). Este material permitió contener el medio de cultivo y tomar fotografías de los organismos para su posterior análisis. Las placas de acrílico que se usaron para elaborar los laberintos presentaban un grosor de 5 mm. Para elaborar tapas que cubrieran los laberintos, se usaron placas de acrílico con un grosor de 3 mm.

Para trabajar en la construcción del laberinto, se usó una herramienta modelo Dremel 4300 para cortar veintisiete cuadros de acrílico de 10x10 cm de longitud en placas de acrílico de 5 mm de grosor. Estos cuadros serían la base y los canales del laberinto. Se trazó el diseño del laberinto en dieciocho de los cuadros, los cuales serían utilizados para elaborar los canales. Nueve de los cuadros, serían utilizados como las bases de los laberintos. Se usó el Dremel 4300 para definir y recortar los obstáculos del laberinto. Finalmente, se usó el cemento acrílico PLASTIGLAS para ensamblar las bases y los canales del laberinto.

Se elaboraron tapas con longitudes de 10.5 x 10.5 cm en placas de acrílico de 3 mm de grosor con el fin de sellar el laberinto.

En total, se elaboraron nueve laberintos con dimensiones de 10x10 cm de lado. Los canales que constituyen el laberinto midieron 1 x 1 cm.

6.4 Co-cultivo en el laberinto de los microorganismos seleccionados

Los laberintos y sus tapas fueron lavados primero con agua y jabón, y luego, con una solución de cloro al 5%. Posteriormente, se esterilizaron en una cámara de luz UV por 45 minutos por ambos lados, con base a lo establecido por Yavuz et al. (2016).

Se elaboró medio de cultivo GYPS. Este fue colocado en los canales de los laberintos con el uso de una pipeta. El medio abarcó 5 mm de grosor de los canales del laberinto. Se seleccionaron tres sitios del laberinto para inocular a los organismos, con el fin de que la interacción hongo-bacteria tuviera contacto con los cinco obstáculos establecidos (Figura 3). En los tres sitios, se inoculó el hongo en el extremo izquierdo del canal inicial del laberinto. Para inocular a la bacteria, se elaboró solución salina estéril al 0.7 %. Todas las bacterias se dejaron a 0.100 de absorbancia/densidad

óptica (DO 600nm) y para verificar que la densidad celular de las muestras fuera igual, se revisó con el uso del NanoDrop. Posteriormente, se tomó 4 μ L de la solución con bacteria y se colocó en el extremo derecho del canal inicial del laberinto.

Se establecieron controles para la evaluación de las estrategias de desplazamiento del hongo y la bacteria por separado. El experimento se llevó a cabo por triplicado. Todos los laberintos se incubaron a temperatura ambiente y en total oscuridad. El crecimiento de los organismos se observó durante 17 días.

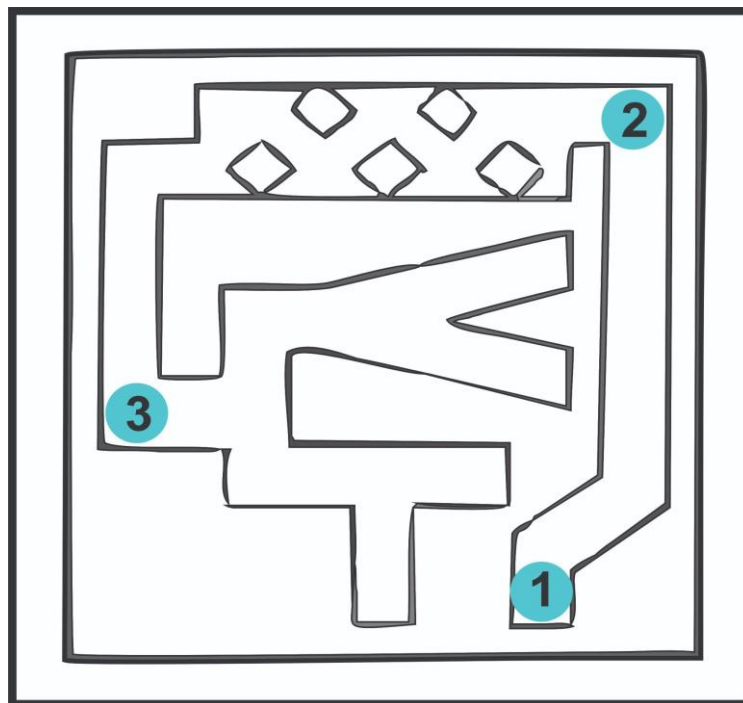


Figura 3. Sitios seleccionados en el laberinto para inocular a los microorganismos seleccionados.

6.5 Registro y análisis fotográfico

Los nueve laberintos fueron fotografiados cada dos días con el fin de analizar el avance y tiempo en el que los organismos lidiaban con los obstáculos colocados. Posteriormente, a través del programa Image J, se analizaron las imágenes con el fin de conocer más detalles respecto al crecimiento, toma de decisiones y estrategias para la resolución del laberinto del hongo y la bacteria en interacción.

6.6 Microscopía compuesta de los laberintos

Para analizar con mayor detalle el crecimiento del hongo y bacteria en interacción, los laberintos fueron revisados a través de un microscopio Leica Z16 ApoA con un aumento de 9.01x del Laboratorio de Microscopía y Fotografía de la Biodiversidad II del Instituto de Biología de la UNAM.

Finalmente, observamos la interacción entre el hongo y la bacteria por el microscopio óptico.

7. RESULTADOS

7.1 Microorganismos selectos

Se obtuvieron 12 BFI en las que se evaluó la capacidad de los microorganismos para cruzar dos tipos de barreras físicas: a) una pared, y b) un corte en el agar para simular una fosa de 5 mm. En general, *P. dodgei*, *Aspergillus* sp. 4 y *A. cejpai* en interacción con *Bacillus* sp. 10 de la Falla Transformante de Pescadero, *Bacillus* sp. 10 de la Dorsal de Alarcón y *Bacillus* sp. 1 cruzaron los dos tipos de barreras físicas entre los días 7 y 14. Es importante mencionar, que *Aspergillaceae* sp. en interacción con *Bacillus* sp. 10 (Falla Transformante de Pescadero), *Bacillus* sp. 10 (Dorsal de Alarcón) y *Bacillus* sp. 1 no cruzó ambas barreras físicas establecidas. Asimismo, por contaminación en algunas cajas Petri, fue difícil identificar si las bacterias cruzaban las dos barreras físicas establecidas por lo que consideramos que las bacterias en su totalidad no lograron cruzar. En la interacción conformada por *P. dodgei* entre *Bacillus* sp. 10 (Dorsal de Alarcón) en la barrera física de pared y durante la interacción con *Bacillus* sp. 10 (Falla Transformante de Pescadero) en la barrera física de fosa, los resultados de las réplicas fueron contradictorios. Ya que en solo uno de los duplicados los hongos cruzaron la barrera física durante los primeros 7 días. Cabe mencionar, que debido a problemas de contaminación no se evaluó la interacción entre los cuatro hongos seleccionados y la bacteria *Bacillus* sp. 2 (Tabla 3 y Tabla 4) (Figura 4 y 5).

Tabla 3. Interacciones hongo-bacteria evaluadas en la barrera física pared o división.

Hongo y localidad	Bacteria y localidad	Hongos que lograron cruzar	Días en los que se confirmó el cruce
<i>Penicillium dodgei</i> Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 10 Falla Transformante de Pescadero	Sí	7
<i>Penicillium dodgei</i> Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 10 Dorsal de Alarcón	Sí en sólo uno de los duplicados	Día 7 en solo uno de los duplicados
<i>Penicillium dodgei</i> Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 1 Falla Transformante de Pescadero	Sí	Entre días 7-14

<i>Aspergillus</i> sp.4 Falla Transformante de Pescadero	<i>Bacillus</i> sp. 10 Falla Transformante de Pescadero	Sí	Día 14
<i>Aspergillus</i> sp.4 Falla Transformante de Pescadero	<i>Bacillus</i> sp. 10 Dorsal de Alarcón	Sí	Día 7
<i>Aspergillus</i> sp.4 Falla Transformante de Pescadero	<i>Bacillus</i> sp. 1 Falla Transformante de Pescadero	Sí	Día 7
<i>Aspergillaceae</i> sp. Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 10 Falla Transformante de Pescadero	No	-
<i>Aspergillaceae</i> sp. Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 10 Dorsal de Alarcón	No	-
<i>Aspergillaceae</i> sp. Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 1 Falla Transformante de Pescadero	No	-
<i>Aspergillus cejprii</i> Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 10 Falla Transformante de Pescadero	Sí	Día 14
<i>Aspergillus cejprii</i> Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 10 Dorsal de Alarcón	Sí	Día 7
<i>Aspergillus cejprii</i> Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 1 Falla Transformante de Pescadero	Sí	Entre días 7-14

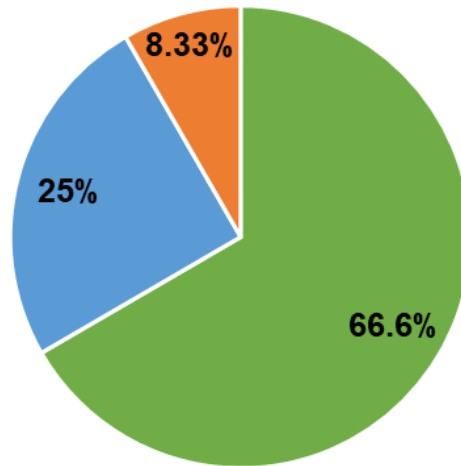


Figura 4. Resumen de los resultados de los bioensayos de interacción donde se evaluó el efecto de la interacción entre hongos y bacterias en la barrera física división o pared. El color verde representa el porcentaje de las interacciones donde el hongo logró cruzar; el color azul representa el porcentaje de las interacciones donde el hongo no logró cruzar y el color naranja representa el porcentaje de la interacción con resultados contradictorios.

Tabla 4. Interacciones hongo-bacteria evaluadas en la barrera física fosa.

Hongo y localidad	Bacteria y localidad	Hongos que lograron cruzar	Días en los que se confirmó el cruce
<i>Penicillium dodgei</i> Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 10 Falla Transformante de Pescadero	Sí en sólo uno de los duplicados	Día 7 en sólo uno de los duplicados
<i>Penicillium dodgei</i> Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 10 Dorsal de Alarcón	Sí	Día 7
<i>Penicillium dodgei</i> Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 1 Falla Transformante de Pescadero	Sí	Día 7
<i>Aspergillus</i> sp. 4 Falla Transformante de Pescadero	<i>Bacillus</i> sp. 10 Falla Transformante de Pescadero	Sí	Día 7
<i>Aspergillus</i> sp. 4	<i>Bacillus</i> sp. 10	Sí	Día 7

Falla Transformante de Pescadero	Dorsal de Alarcón		
<i>Aspergillus</i> sp. 4 Falla Transformante de Pescadero	<i>Bacillus</i> sp. 1 Falla Transformante de Pescadero	Sí	Día 7
<i>Aspergillaceae</i> sp. Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 10 Falla Transformante de Pescadero	No	-
<i>Aspergillaceae</i> sp. Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 10 Dorsal de Alarcón	No	-
<i>Aspergillaceae</i> sp. Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 1 Falla Transformante de Pescadero	No	-
<i>Aspergillus cejpaii</i> Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 10 Falla Transformante de Pescadero	Sí	Día 7
<i>Aspergillus cejpaii</i> Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 10 Dorsal de Alarcón	Sí	Día 7
<i>Aspergillus cejpaii</i> Dorsal de Alarcón	<i>Bacillus</i> sp. 1 Falla Transformante de Pescadero	Sí	Día 7

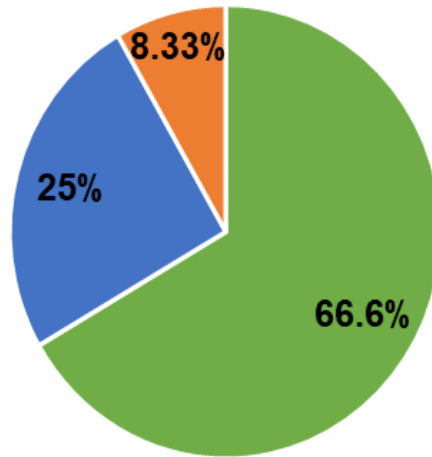


Figura 5. Resumen de los resultados de los bioensayos de interacción donde se evaluó el efecto de la interacción entre hongos y bacterias en la barrera física fosa. El color verde representa el porcentaje de las interacciones donde el hongo logró cruzar; el color azul representa el porcentaje de las interacciones donde el hongo no logró cruzar y el color naranja representa el porcentaje de la interacción con resultados contradictorios.

Bacillus sp. 10 (Dorsal de Alarcón) mantuvo una asociación física cercana con *P. dodgei*, agregándose alrededor de las hifas de este hongo. En consecuencia, éstas, presentaron un engrosamiento al estar en contacto con la bacteria y un cambio en su coloración. Las micrografías de SEM confirmaron que las bacterias se adhieren a las hifas del hongo (Fig. 6). A su vez, estas imágenes permitieron detallar estructuras de los microorganismos como la formación del esporiducto en *Bacillus* sp. 10. Identificamos también que *P. dodgei* forma ascosporas, por lo que observamos estas estructuras con mayor detalle en microscopía SEM (Fig. 7). Por ello, seleccionamos a *P. dodgei* y a *Bacillus* sp. 10, aislados del sedimento de la Dorsal de Alarcón para inocularlos en el laberinto de acrílico y observar su respuesta ante los cinco obstáculos establecidos.

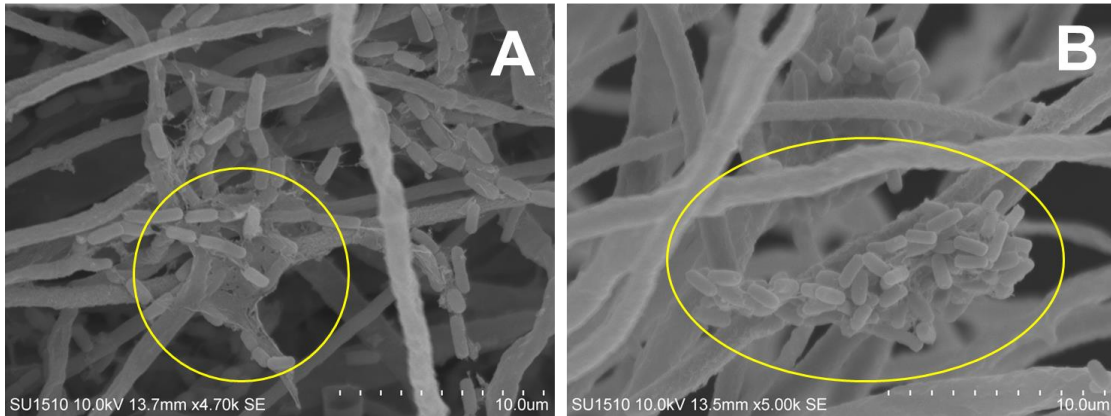


Figura 6. Microfotografías de la interacción entre *P. dodgei* y *Bacillus* sp. 10 (Dorsal de Alarcón) a través de microscopía electrónica de barrido. A) Compuesto que permite la adherencia de *Bacillus* sp. 10 a las hifas de *P. dodgei*. B) Adherencia de *Bacillus* sp. 10 a las hifas de *P. dodgei*.

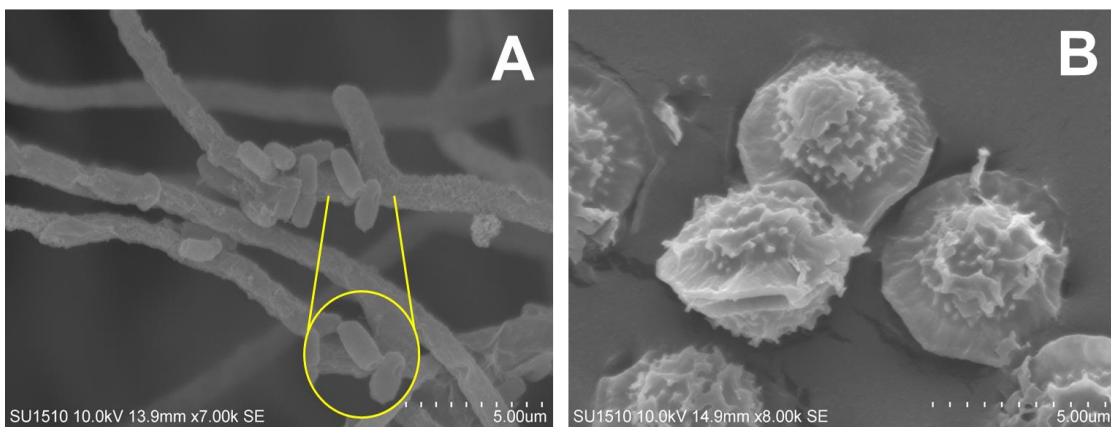


Figura 7. Microfotografías del esporiducto de *Bacillus* sp. 10 en interacción con *P. dodgei* y las ascosporas de *P. dodgei*. A) Esporiducto. B) Ascosporas ornamentadas.

7.2 Desempeño de los microorganismos en los laberintos

Durante la toma de fotografías de los laberintos de acrílico, notamos que dos controles correspondientes al crecimiento de *P. dodgei*, presentaron contaminación, por lo que fueron descartados para el proceso de análisis.

Bacteria

En los controles, *Bacillus* sp. 10 presentó un crecimiento radial (Figura 8). En el sitio 2 de inoculación, que corresponde al canal serpenteante, hubo un mayor crecimiento

que en los otros sitios de inoculación (Figura 9). *Bacillus* sp. 10 mostró un mayor crecimiento durante los primeros días de inoculación.

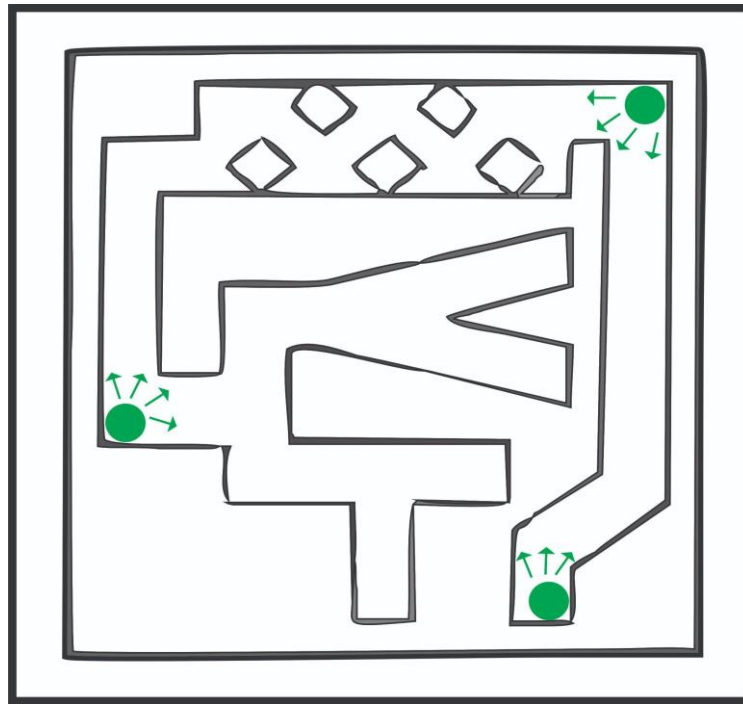


Figura 8. Crecimiento radial de *Bacillus* sp. 10 en los tres sitios de inoculación en el laberinto.

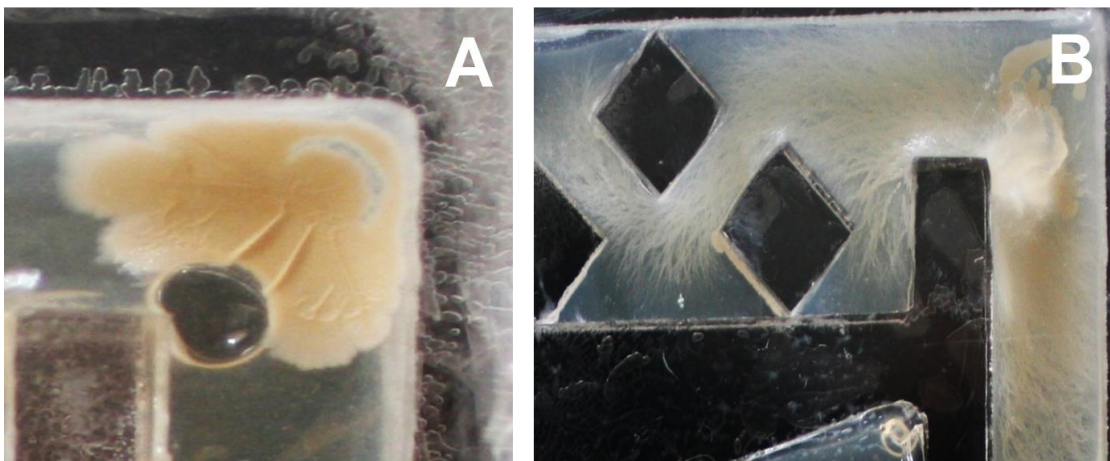
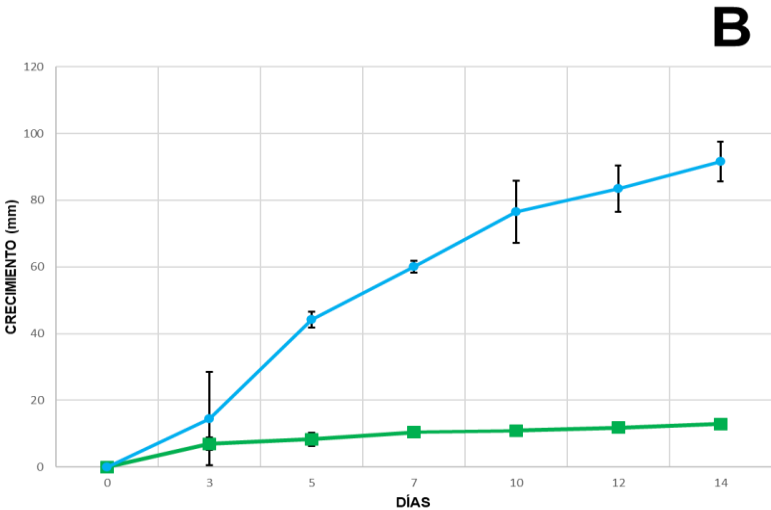
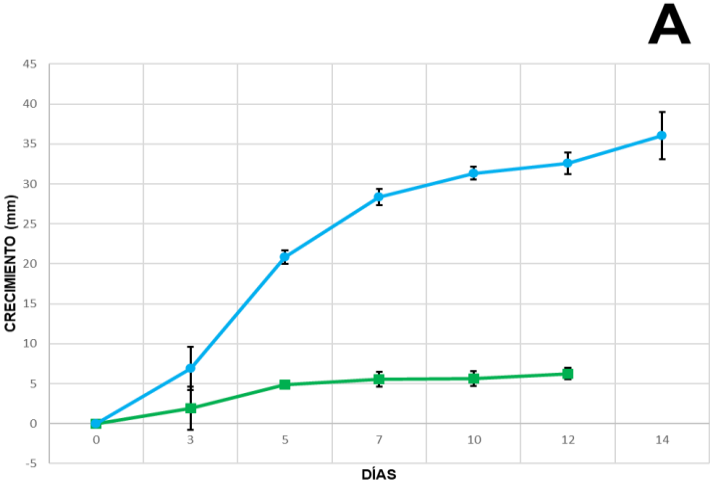


Figura 9. Crecimiento de *Bacillus* sp. 10 en el sitio 2 del laberinto. A) Monocultivo. B) Co-cultivo con *P. dodgei*.

En co-cultivo con *P. dodgei*, *Bacillus* sp. 10 recorrió una mayor distancia en cuatro obstáculos del laberinto, los cuales corresponden a canal con un ángulo de 35°, canal con un ángulo de 90°, canal serpenteante y canal con pared frontal (Figura 10). Es importante mencionar que en el sitio 3 de la inoculación, la bacteria se separó de su

asociación física con el hongo, desplazándose en dirección al norte y sur del canal, específicamente por la orilla del canal. Este comportamiento también se presentó en una de las réplicas en el sitio 2 de inoculación (Figura 11). Se requiere estudiar este comportamiento con mayor detalle para identificar si realmente *Bacillus* sp. 10 se separa de *P. dodgei* y posteriormente se desplaza.



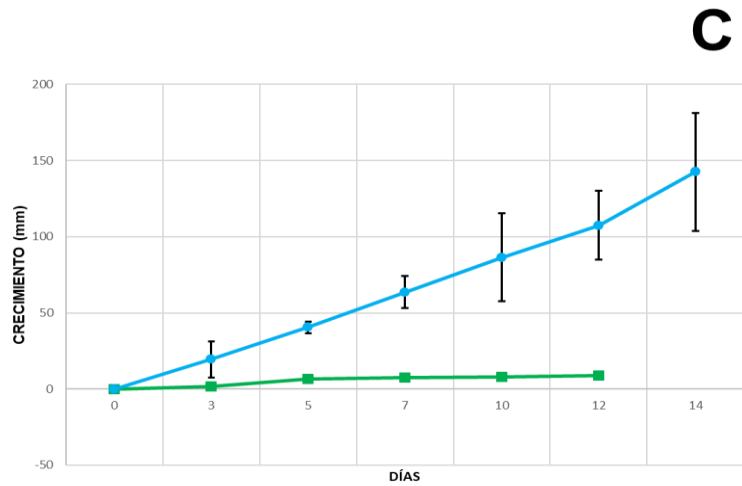


Figura 10. Gráficas de crecimiento de *Bacillus* sp. 10 en mono-cultivo (verde) y en co-cultivo con *P. dodgei* (azul) en A) Sitio 1 de inoculación. B) Sitio 2 de inoculación. C) Sitio 3 de inoculación.

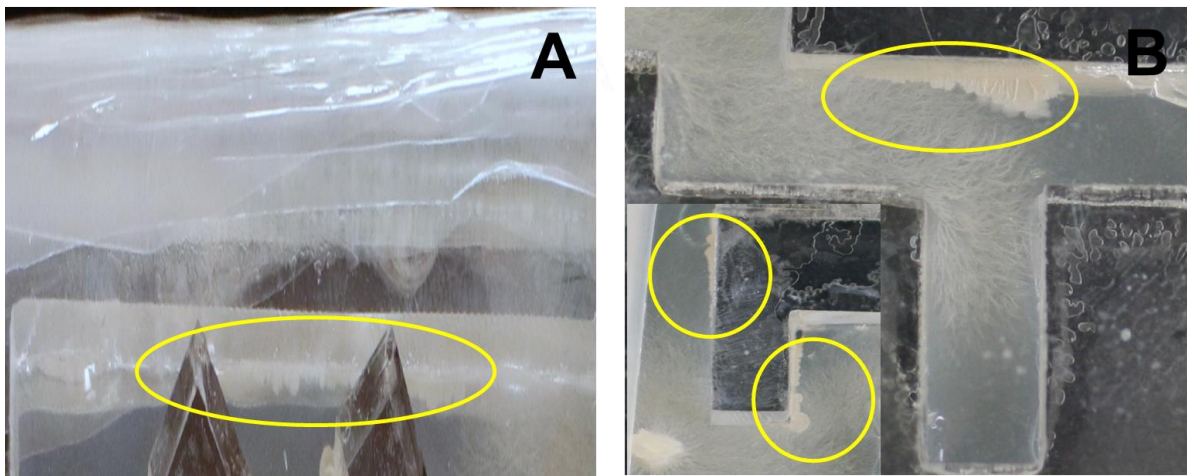


Figura 11. Crecimiento de *Bacillus* sp. 10 en interacción con *P. dodgei*. A) Desplazamiento de *Bacillus* sp. 10 en el sitio 2 de inoculación. B) Desplazamiento de *Bacillus* sp. 10 en el sitio 3 de inoculación.

Hongo

En mono-cultivo, *P. dodgei* abarcó todos los obstáculos del laberinto en 17 días, explorando en su totalidad los espacios disponibles para su crecimiento (Figura 12).

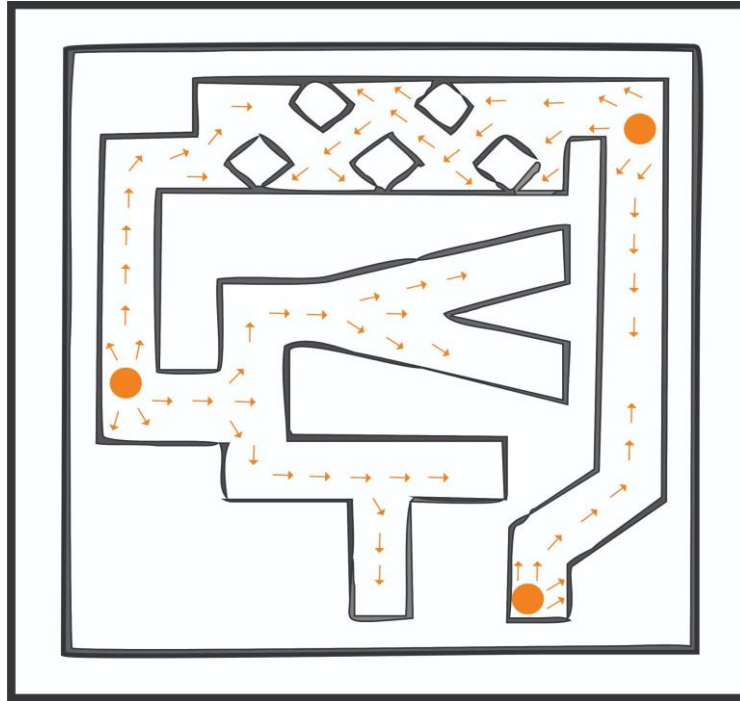
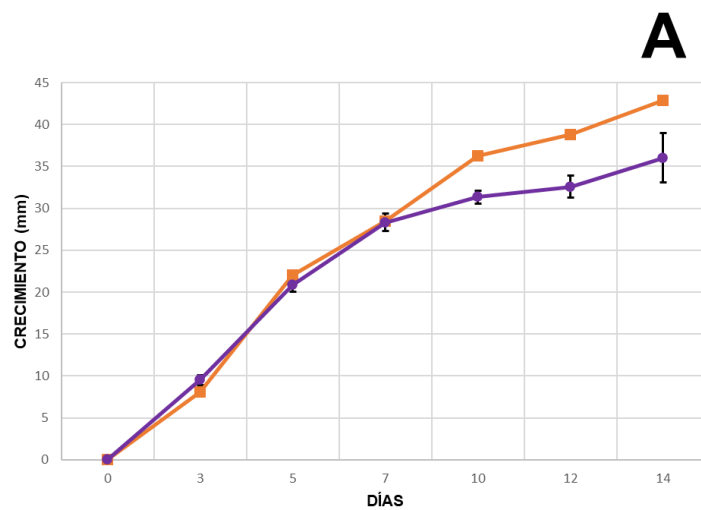


Figura 12. Dirección de crecimiento de las hifas de *P. dodgei* en los tres sitios de inoculación en el laberinto.

En co-cultivo con *Bacillus* sp. 10, *P. dodgei* presentó un crecimiento menor, ya que no cubría todos los espacios de los canales del laberinto como se observó en monocultivo (Figura 13). Las hifas presentaron diferentes direcciones de crecimiento, se caracterizaban por estar más gruesas y tener una coloración parecida a la de la bacteria (Figura 14, figura 15 y figura 16).



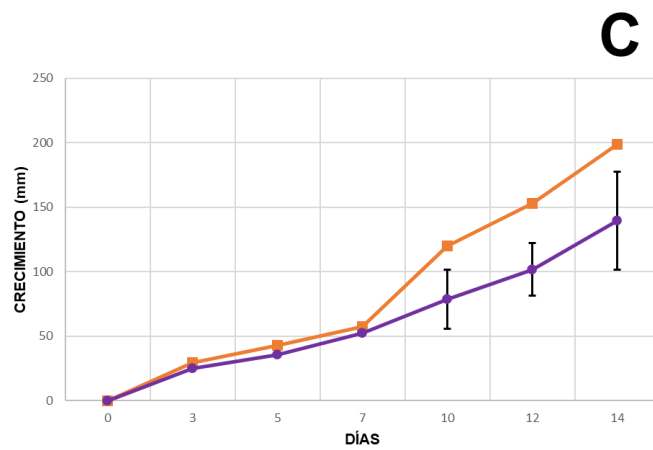


Figura 13. Gráficas de crecimiento de *P. dodgei* en mono-cultivo (naranja) y en co-cultivo con *Bacillus* sp. 10 (morado) en A) Sitio 1 de inoculación. B) Sitio 2 de inoculación. C) Sitio 3 de inoculación.

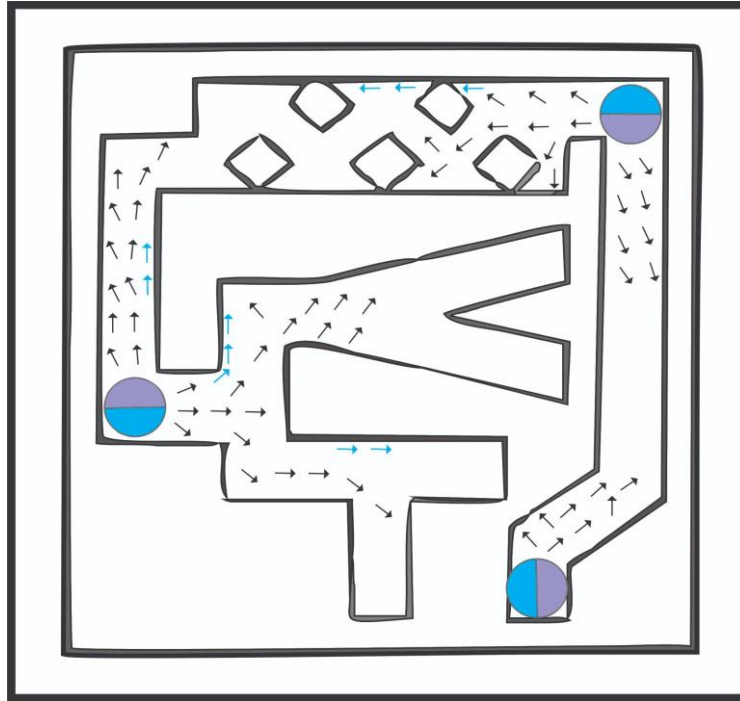


Figura 14. Dirección de crecimiento de las hifas de *P. dodgei* en interacción con *Bacillus sp. 10* en los tres sitios de inoculación en el laberinto. El color morado representa los inóculos de *P. dodgei* y el color azul, los inóculos de *Bacillus sp. 10*. Las flechas negras representan la dirección de las hifas de *P. dodgei* junto con la adherencia de *Bacillus sp. 10*. Las flechas azules representan la dirección de crecimiento de *Bacillus sp. 10* cuando se separó de las hifas de *P. dodgei*.

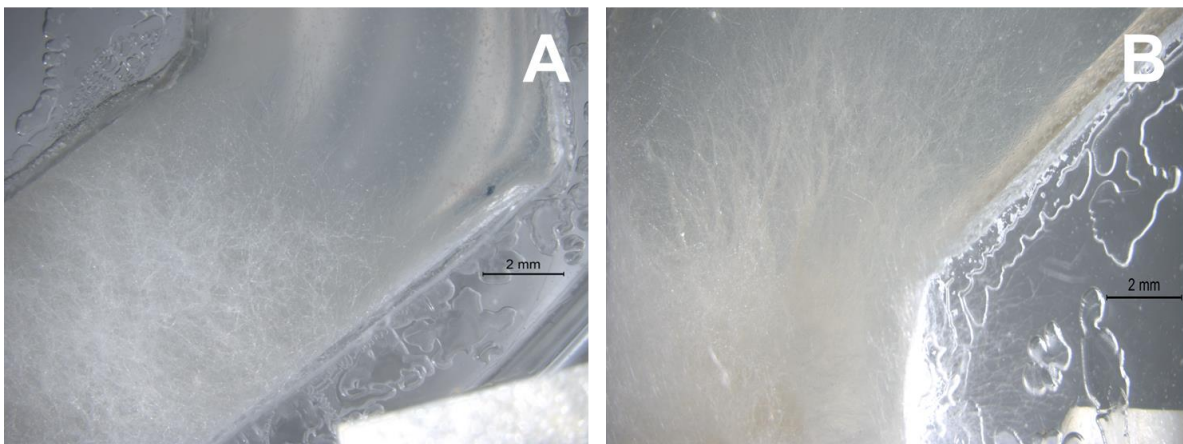


Figura 15. Dirección de crecimiento de *P. dodgei* observado a través de microscopía compuesta. A) Mono-cultivo B) Co-cultivo.

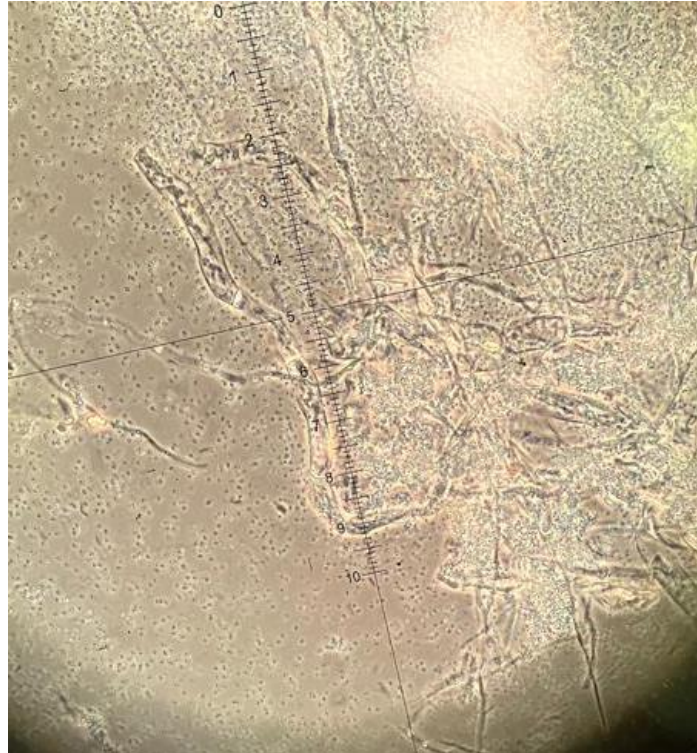


Figura 16. Hifas de *P. dodgei* con la adherencia de *Bacillus* sp. 10 en microscopio óptico a 40X.

En el primer obstáculo que corresponde a un canal con un ángulo de 35°, *P. dodgei* creció y luego abarcó toda el área del canal en 10 días, siguiendo la forma del ángulo agudo. Durante la interacción con *Bacillus* sp.10, observamos que las hifas del hongo tenían diferentes direcciones de crecimiento, sin embargo, las hifas lograron crecer en dirección al ángulo agudo al final del experimento. La resolución de este obstáculo ocurrió entre los días 10 y 12 (Figura 17).

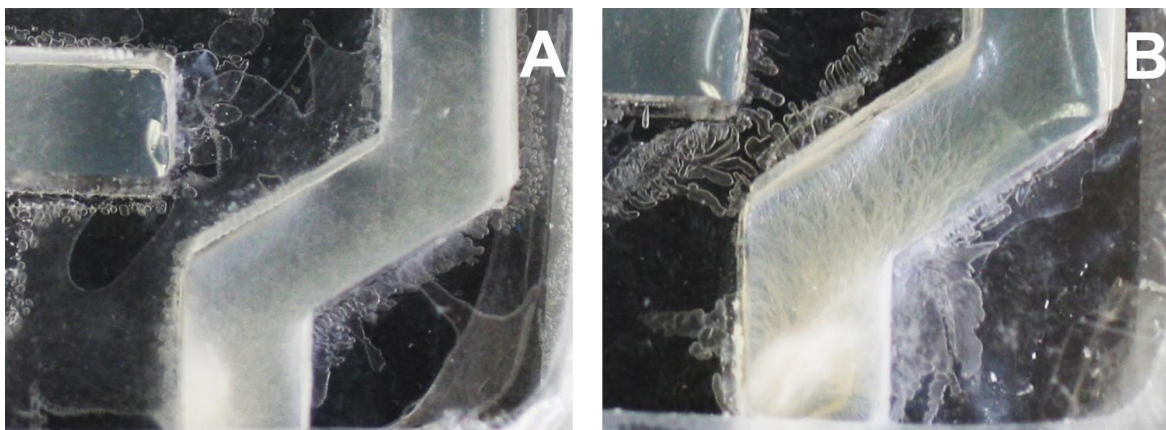


Figura 17. Crecimiento de *P. dodgei* en el canal con un ángulo de 35°. A) Mono-cultivo. B) Co-cultivo con *Bacillus* sp. 10.

En el segundo obstáculo que corresponde a un canal con un ángulo de 90°, las hifas de *P. dodgei* crecieron en dirección a este obstáculo y terminó de recorrerlo el día 14, cubriendo todo el espacio del canal. En interacción con *Bacillus* sp. 10, en solo una de las réplicas, las hifas de *P. dodgei* terminaron de recorrer este obstáculo en el día 17. Las hifas presentaron diferentes direcciones al encontrarse con este obstáculo y dos de las réplicas no lo completaron (Figura 18).

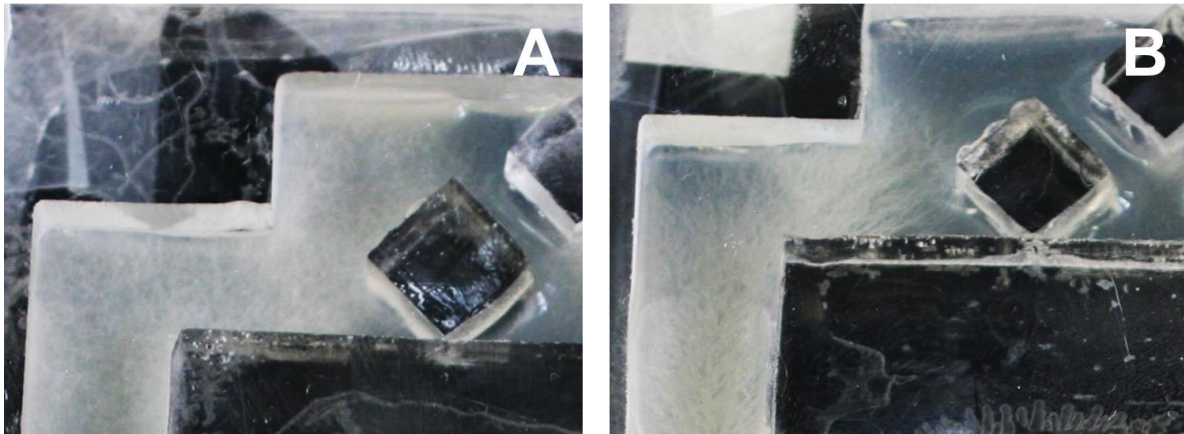


Figura 18. Crecimiento de *P. dodgei* en el canal con un ángulo de 90°. A) Mono-cultivo. B) Co-cultivo con *Bacillus* sp. 10.

En el tercer obstáculo que corresponde a un canal serpenteante, *P. dodgei* exploró el espacio disponible y comenzó a crecer en dirección diagonal, siguiendo el patrón del canal serpenteante. Abarcó casi todo el espacio en 17 días. En interacción con *Bacillus* sp. 10, *P. dodgei* no terminó de recorrer el obstáculo, ya que su crecimiento se detuvo al recorrer la mitad del canal serpenteante. Además, de todo su recorrido por esta zona, las hifas no cubrieron todo el canal y presentaban diferentes direcciones. Sin embargo, si seguían el patrón del canal serpenteante (Figura 19).

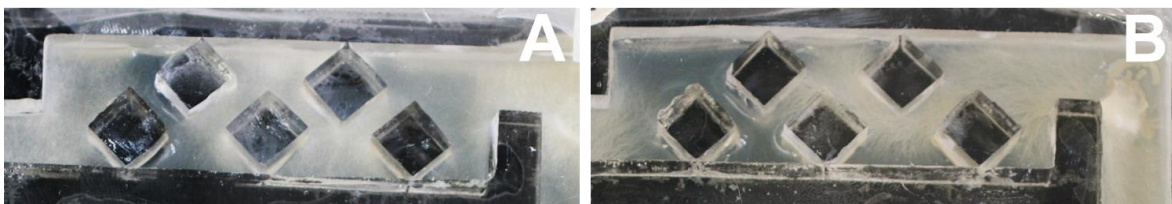


Figura 19. Crecimiento de *P. dodgei* en el canal serpenteante. A) Mono-cultivo. B) Co-cultivo con *Bacillus* sp. 10.

En el cuarto obstáculo que corresponde a un canal con una pared frontal, observamos que *P. dodgei* abarca toda el área del obstáculo, las hifas crecieron en dirección a los dos canales disponibles, antes de pasar por la pared frontal. Este crecimiento terminó el día 10. El día 17, *P. dodgei* también abarcó el canal en forma de Y, creciendo en dirección a las dos salidas. En interacción con *Bacillus* sp. 10, las hifas de *P. dodgei* presentaron diferentes direcciones de crecimiento, además en dos réplicas, a *P. dodgei* le resultó complicado crecer en dirección a los dos canales disponibles y tuvo preferencia por crecer más hacia una de las salidas que se encontraba en este obstáculo. Este comportamiento se observó entre los días 10 y 12. En solo una de las réplicas, la interacción hongo-bacteria comenzó a recorrer el canal en forma de Y (Figura 20).

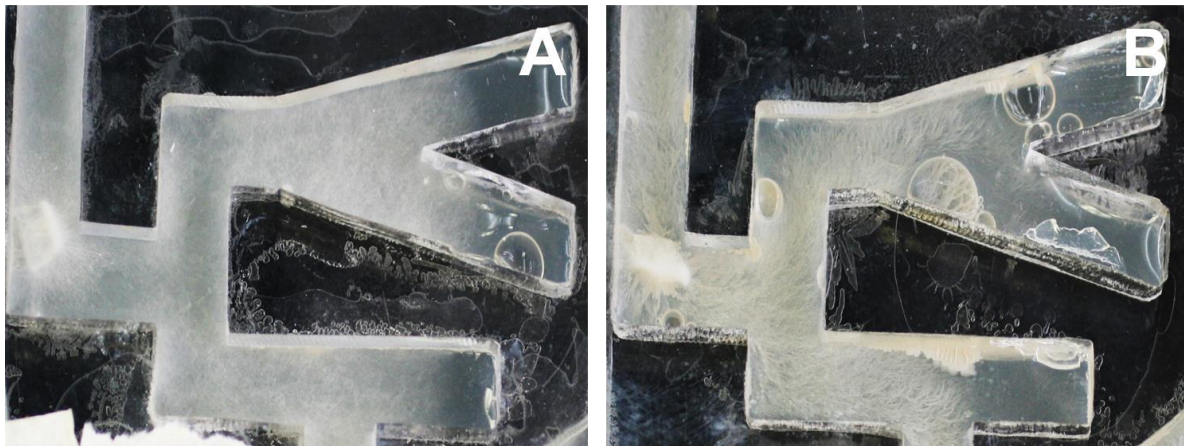


Figura 20. Crecimiento de *P. dodgei* en el canal con una pared frontal. A) Mono-cultivo. B) Co-cultivo con *Bacillus* sp. 10.

En el quinto obstáculo, que corresponde a un canal con salida lateral, observamos que la dirección de crecimiento de *P. dodgei* fue: hacia enfrente y hacia la salida lateral. Este crecimiento finalizó el día 17. En interacción con *Bacillus* sp. 10, las hifas de *P. dodgei* presentaban diferentes direcciones. Solo en una de las réplicas, la interacción hongo-bacteria terminó el obstáculo, creciendo solamente hacia la salida lateral y ya no hacia enfrente. En las otras dos réplicas, la interacción no terminó este obstáculo (Figura 21).

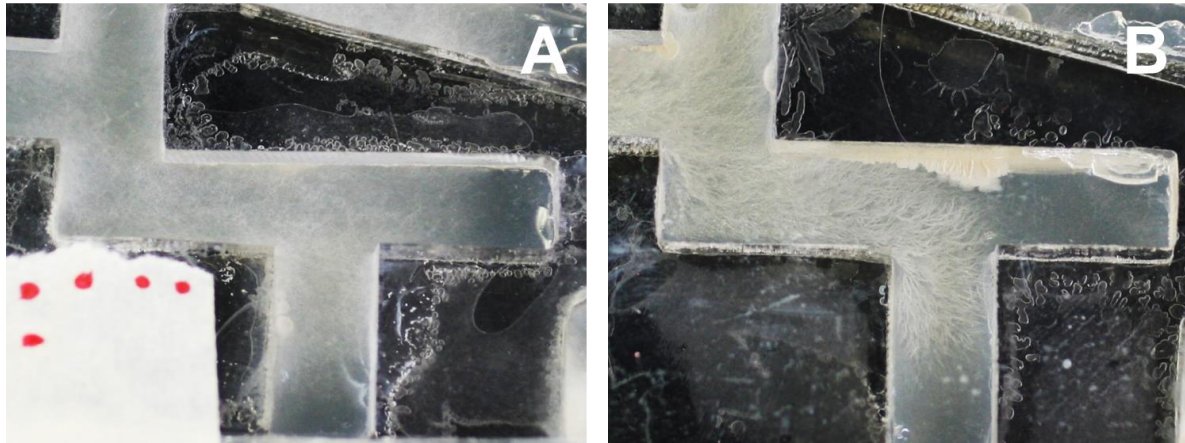


Figura 21. Crecimiento de *P. dodgei* en el canal con una salida lateral. A) Mono-cultivo. B) Co-cultivo con *Bacillus* sp. 10.

Análisis estadísticos

Dado que se contaba con pocos datos, los análisis estadísticos para comparar el crecimiento y la distancia recorrida por el hongo y la bacteria tanto en mono-cultivo como en co-cultivo, no fue posible. Sin embargo, se elaboraron pruebas t-Student para comparar la distancia recorrida por *Bacillus* sp. 10 y *P. dodgei* en mono-cultivo y co-cultivo en el sitio 2 de inoculación, y conocer el tiempo necesario para que la distancia recorrida durante la interacción entre los organismos fuera significativa.

En el co-cultivo observamos que *Bacillus* sp. 10 en el sitio 2 de inoculación, presentó crecimiento significativo a partir del día 5, el cual corresponde a cuando se forma la interacción física con el hongo. Cabe recalcar que estos resultados son exploratorios y son necesarias más réplicas para robustecer el análisis (Tabla 5).

Tabla 5. Prueba t-Student por días entre el mono-cultivo de *Bacillus* sp. 10 y el co-cultivo de *Bacillus* sp. 10 y *P. dodgei* en el sitio 2 de inoculación.

Día 3			Día 5		
	Bacteria en mono-cultivo	Bacteria en co-cultivo		Bacteria en mono-cultivo	Bacteria en co-cultivo
Media	6.9705	6.4245	Media	8.356	45.402
Varianza	3.3930125	1.1781125	Varianza	3.886472	2.26845
Observaciones	2	2	Observaciones	2	2
Coefficiente de correlación de Pearson	1		Coefficiente de correlación de Pearson	-1	
Diferencia hipotética de las medias	0		Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1		Grados de libertad	1	
Estadístico t	1.02056075		Estadístico t	15.0654738	
P(T<=t) una cola	0.24676107		P(T<=t) una cola	0.02109749	
Valor crítico de t (una cola)	6.31375151		Valor crítico de t (una cola)	6.31375151	
P(T<=t) dos colas	0.49352213		P(T<=t) dos colas	0.04219497	
Valor crítico de t (dos colas)	12.7062047		Valor crítico de t (dos colas)	12.7062047	
NO ES SIGNIFICATIVO			ES SIGNIFICATIVO		

Día 7			Día 10		
	Bacteria en mono-cultivo	Bacteria en co-cultivo		Bacteria en mono-cultivo	Bacteria en co-cultivo
Media	10.4575	59.114	Media	10.949	71.2875
Varianza	0.5886125	2.056392	Varianza	1.083392	6.8117405
Observaciones	2	2	Observaciones	2	2
Coefficiente de correlación de Pearson	-1		Coefficiente de correlación de Pearson	-1	
Diferencia hipotética de las medias	0		Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1		Grados de libertad	1	
Estadístico t	31.2601992		Estadístico t	23.3734263	
P(T<=t) una cola	0.01017912		P(T<=t) una cola	0.01361015	
Valor crítico de t (una cola)	6.31375151		Valor crítico de t (una cola)	6.31375151	
P(T<=t) dos colas	0.02035824		P(T<=t) dos colas	0.0272203	
Valor crítico de t (dos colas)	12.7062047		Valor crítico de t (dos colas)	12.7062047	
ES SIGNIFICATIVO			ES SIGNIFICATIVO		

Día 12			Día 14		
	Bacteria en mono-cultivo	Bacteria en co-cultivo		Bacteria en mono-cultivo	Bacteria en co-cultivo
Media	11.7615	79.69	Media	12.921	88.129
Varianza	0.5886125	14.993288	Varianza	0.98	1.4792
Observaciones	2	2	Observaciones	2	2
Coefficiente de correlación de Pearson	-1		Coefficiente de correlación de Pearson	1	
Diferencia hipotética de las medias	0		Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	1		Grados de libertad	1	
Estadístico t	20.706752		Estadístico t	470.05	
P(T<=t) una cola	0.01536034		P(T<=t) una cola	0.000677182	
Valor crítico de t (una cola)	6.31375151		Valor crítico de t (una cola)	6.313751515	
P(T<=t) dos colas	0.03072068		P(T<=t) dos colas	0.001354364	
Valor crítico de t (dos colas)	12.7062047		Valor crítico de t (dos colas)	12.70620474	
ES SIGNIFICATIVO			ES SIGNIFICATIVO		

8. DISCUSIÓN

8.1. Mecanismos microbianos para lidiar con barreras físicas

A través de este experimento, observamos que la mayor parte de los hongos en interacción con las bacterias evaluadas, cruzaron las barreras físicas establecidas. El micelio estaría respondiendo a los recursos que hay del otro lado de las barreras físicas. Esto tiene relación con lo que se ha observado en otros estudios. El micelio cambia en respuesta a señales nutricionales, ambientales e interacciones con otros organismos y esto es posible gracias al crecimiento, ramificación, fusión y regresión de las hifas, todo ello, a partir de procesos fisiológicos relacionados con la distribución de los nutrientes a lo largo del micelio (Boddy & Jones, 2007). Estas señales, podrían influir en el hongo y dirigir la biomasa de éste, dando como resultado el movimiento dirigido (Bielčík et al., 2019; Nathan et al., 2008). Aún se desconoce la forma en la que se toman y coordinan las señales y respuestas del micelio. Sin embargo, se cree que se coordinan a través de procesos de comunicación a larga distancia por varias células y procesos de señalización rápida a larga distancia como los impulsos eléctricos (Alekkett & Boddy, 2021; Friker et al., 2017). Por lo tanto, los hongos presentan diferentes comportamientos, respuestas o estrategias ante el entorno biótico y abiótico (Alekkett & Boddy, 2021), causando que estos puedan lidiar con diferentes barreras espaciales para obtener recursos.

Sin embargo, *Aspergillaceae* sp. en interacción con las bacterias evaluadas no logró cruzar ninguna de las dos barreras físicas establecidas. Esto puede deberse a que el crecimiento de *Aspergillaceae* sp. se vio afectado por una competencia por los nutrientes con las bacterias. En algunas BFI de competencia, los hongos y las bacterias pueden sintetizar compuestos químicos que actúan en mecanismos como la interrupción de la membrana celular, inhibición de biosíntesis de pared celular y metabolismo primario (Deveau et al., 2018). Esto podría explicar los efectos negativos observados en el crecimiento de *Aspergillaceae* sp.

A pesar de que fue complicado determinar el cruce bacteriano de las barreras físicas por problemas de contaminación, creemos que, para las bacterias es difícil lidiar con las dos barreras espaciales, ya que su crecimiento no es similar al que presentan los hongos. En el suelo y sedimento, se ha observado que el tamaño pequeño de las

bacterias junto con las características del suelo y el sedimento, hacen que estos organismos necesiten de otros mecanismos de dispersión para ampliar su influencia y presencia; estos mecanismos pueden depender de organismos o vectores (Rebata-Landa & Santamarina, 2006; Yang & van Elsas, 2018). Además, es posible que el crecimiento de las bacterias se haya visto afectado por su interacción con el hongo, ya que se ha observado que, en algunas BFI se generan cambios en el desarrollo que afectan la dispersión o formación de biopelículas en los organismos (Steffan et al., 2020).

8.2. Comportamiento microbiano en el laberinto

Dado que dos laberintos controles del crecimiento de *P. dodgei* presentaron contaminación, recomendamos que los laberintos de acrílico deben ser esterilizados a través del uso de luz UV por más tiempo, procurando que todos los espacios del laberinto puedan ser esterilizados o sugerimos completar con el uso de métodos químicos de esterilización (Münker et al., 2018; Yavuz et al., 2016).

8.2.1. Bacteria

Efectos de la interacción en la movilidad

La asociación entre *Bacillus* sp. 10 y *P. dodgei*, es similar a otras asociaciones físicas entre hongos y bacterias en las cuales, las bacterias logran una mayor dispersión a través de la adherencia física con los hongos filamentosos. Se sabe que algunos microorganismos son inmóviles, ya que no presentan estructuras especializadas para la motilidad (pilis y flagelos) o no pueden moverse en determinadas condiciones (Muok & Briegel, 2021). Sin embargo, se ha identificado una forma de dispersión en el suelo conocida como “*hitchhiking*”, y que pueden llevar a cabo estos organismos. Ésta consiste en el desplazamiento de un organismo sésil gracias a la adherencia a otro organismo que sí puede moverse (Muok & Briegel, 2021). Debido a que, en las micrografías de SEM, observamos que *Bacillus* sp. 10 está adherida a las hifas de *P. dodgei* a través de la secreción de una sustancia adhesiva, creemos que este tipo de transporte microbiano está presente durante la interacción. Por lo tanto, *Bacillus* sp. 10 se dispersó a mayores distancias gracias a un efecto de “*hitchhiking*” en las hifas de *P. dodgei* (Warmink et al., 2011; Yang & van Elsas, 2018).

Queda por analizar la composición de la sustancia que permite la adherencia de *Bacillus* sp. 10 a *P. dodgei* y la forma en la cual se sintetiza. Se han detectado mecanismos implicados en el establecimiento de las BFI, (que incluye la adherencia de las bacterias a las hifas de los hongos); como los sistemas de secreción, pilis y flagelos, quitinasas, macromoléculas de formación de biopelículas (polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos) y compuestos liberados por hongos durante la BFI (por ejemplo, los compuestos carbonosos de bajo peso molecular) (Haq et al., 2014). En algunos trabajos, se han reportado diferentes mecanismos por los cuales las bacterias pueden adherirse a las hifas de los hongos. Dentro de estos mecanismos, se ha mencionado que *B. subtilis* puede establecer biopelículas a través de la producción de exopolisacáridos y fibras amiloides (componentes de la matriz de la biopelícula) en los hongos *Aspergillus niger* y *Agaricus bisporus* (Kjeldgaard et al., 2019). Además, se ha observado la unión entre *Gigaspora margarita*, rizobios y pseudomonas a través de la producción de material extracelular que contiene celulosa por parte de las bacterias (Bianciotto et al., 1996), así como también la asociación entre dos cepas mutantes de *Pseudomonas fluorescens* CHA0 y el hongo micorriza *Glomus intraradices* a partir de la síntesis mejorada de polisacáridos extracelulares ácidos (Bianciotto et al., 2001). En sitios extremos como el sistema oligotrófico de fósforo Cuatro Ciénegas, México, se encontró la asociación física por material adhesivo fibroso entre *Coprinellus micaceus* 1 y *Aeromonas* sp. 1 (Velez et al., 2018).

Sin embargo, otras sustancias como ramnolípidos podrían estar relacionados con la adherencia bacteriana a las hifas. En un estudio experimental relacionado con la influencia de ramnolípidos para la mejora de la adherencia de *P. putida* KT2442 y *Rhodococcus erythropolis* 3586 a *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, encontraron que los ramnolípidos mejoran la adhesión de *P. putida* KT2442 a las hifas de *A. brasiliensis* ATCC 16404 (Hamzah et al., 2020). Así pues, *Bacillus* sp. 10 estaría secretando componentes adhesivos que le permiten adherirse a las hifas de *P. dodgei*.

Asimismo, es necesario analizar las causas por las cuales durante la interacción con *P. dodgei*, *Bacillus* sp. 10 presentó una estructura que en la literatura es conocida como esporiducto. Esta estructura ha sido observada en *Clostridium sporogenes* a través de SEM, describiendo una abertura en el extremo del exosporio que rodea las

esporas y permite la salida de células (Brunt et al., 2015). En otro estudio, se analizaron las respuestas de *B. subtilis* en interacción con *Glycine max*, en el que notaron que *B. subtilis* desarrolló esporiductos durante su crecimiento saprófito en *G. max* que indican la formación de endosporas (Sugiura et al., 2020). El estudio del esporiducto presentado en *Bacillus* sp. 10 nos proporcionará más información respecto a su interacción con *P. dodgei* así como también el estado fisiológico de la *Bacillus* sp.10 durante la interacción.

A través de observaciones durante el estudio de las BFI, se ha hipotetizado la manera en la que se establecen las interacciones dependientes del contacto físico. Estas pueden ocurrir en primer lugar por la aproximación de las células bacterianas y las hifas a través de la producción de una señal o un proceso aleatorio para reconocerse por las moléculas de señal en las paredes celulares. Las bacterias se adhieren a las hifas, fortaleciendo la interacción (en este punto las bacterias pueden mostrar motilidad espasmódica); posteriormente las bacterias pueden influir en la fisiología de las células fúngicas a través de proteínas efectoras, cambios en la composición de su sustancia polimérica extracelular para tener una adherencia permanente y motilidad (por formación de películas de agua de los hongos), crecimiento gracias a los compuestos liberados por los hongos; además pueden formar biopelículas alrededor de las hifas y secretar quitinasas que degradan las paredes celulares de los hongos (Haq et al., 2014). Este sería el mecanismo que da como resultado el establecimiento de la interacción entre *Bacillus* sp. 10 y *P. dodgei*.

Es importante mencionar que la interacción entre *Bacillus* sp. 10 y *P. dodgei* no es igual a una *fungus highway*. Ya que, al observar la interacción por microscopía compuesta, no existe un desplazamiento de *Bacillus* sp. 10 a través de las hifas de *P. dodgei* (Bielčik et al., 2019), solo hay adherencia y una asociación física. Por ello, se requiere investigar más detalles relacionados con este tipo de transporte, los efectos en los microorganismos interactuantes y su influencia en el ecosistema donde estos organismos habitan.

Con respecto al laberinto, *Bacillus* sp. 10 creció radialmente en los tres sitios de inoculación en monocultivo. Sin embargo, de esta manera no pudo recorrer todos los obstáculos colocados. *Bacillus* sp. 10 abarca una distancia mayor que cuando está asociada a *P. dodgei* y puede recorrer cuatro obstáculos del laberinto de esta manera.

Esto tiene relación con lo que se ha observado en otros estudios enfocados en los mecanismos de dispersión para las bacterias presentes en el suelo.

Además, observamos que ocasionalmente *Bacillus* sp. 10 en interacción con *P. dodgei* puede separarse de esta asociación y desplazarse individualmente por la orilla del laberinto, a una distancia mayor. Esto puede deberse a que *Bacillus* sp. 10 pudo interactuar con la superficie del canal del laberinto y continuar desplazándose durante su interacción con el hongo. Se ha observado que la adhesión de las bacterias a las superficies sólidas puede depender de las propiedades de la superficie como densidad de la carga superficial (fuerza de van der Waals e interacciones electroestáticas) humectabilidad, rugosidad, topografía, rigidez y efecto del flujo hidrodinámico (Zheng et al., 2021). Además, en el género *Bacillus*, se han reportado dos tipos de motilidad: “*swarming*” y “*sliding*”. El movimiento “*sliding*” da como resultado que las células se extiendan hacia afuera. (Harshey, 2003) y se ha encontrado que en este comportamiento influyen moléculas como lipopéptidos como la surfactina, proteínas hidrofobinas BslA y exopolisacáridos (Jautzus et al., 2022; Kovács et al., 2017). Dado que el “*sliding*” podría ser la causa por la que *Bacillus subtilis* coloniza superficies, se han sugerido medios de cultivo que permiten analizar este comportamiento con mayor detalle (Fall et al., 2006).

De acuerdo con las micrografías de SEM, *Bacillus* sp. 10 no presenta flagelos. Por lo tanto, en monocultivo esta bacteria probablemente aprovecha las características del material con el cual fue elaborado el laberinto y llevar a cabo el tipo de motilidad conocida como “*sliding*”. Sin embargo, este desplazamiento bacteriano presentado por *Bacillus* sp. 10 requiere confirmarse y analizarse con más detalle.

Implicaciones en el ecosistema

En ecosistemas terrestres, se ha observado que las características de la matriz del suelo como la humedad, conectividad de los poros con agua y aire presentes entre las partículas del suelo, la textura del suelo (arenoso o arcilloso), la densidad, compactación y la hidrofobicidad son barreras para la propagación bacteriana, de manera que la dispersión de las bacterias ocurre a través de procesos pasivos (flujo de agua, viento o a través de otros organismos), procesos activos (“*swimming*” por flagelos, “*swarming*”, quimiotaxis, “*twitching*” por pilis tipo IV y “*gliding*”) o incluso el

uso de ambos tipos de procesos (Yang & van Elsas, 2018). A través del micelio y sus mecanismos de redistribución de biomasa, los hongos exploran espacios, responden a cambios ambientales y a la distribución de nutrientes; por las hidrofobinas pueden cruzar espacios aire-agua e invadir poros de aire del suelo, de modo que los hongos son vehículos que facilitan el transporte bacteriano en el suelo (Deveau et al., 2018).

En el sedimento marino, se ha observado que estas barreras espaciales para los microorganismos pueden tratarse del tamaño del poro, del tamaño de los espacios entre los poros y la profundidad (Rebata-Landa & Santamarina, 2006). Se conoce, además, que las bacterias marinas se mueven también a través de interacciones ecológicas (simbiosis, competencia, parasitismo) con otros organismos (Grossart et al., 2001). Recientemente se ha investigado acerca de las interacciones hongo-bacteria en sedimentos marinos costeros contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos y se ha encontrado que los hongos seleccionan y permiten la dispersión de bacterias a través de las “*fungual highways*” (Álvarez-Barragán et al., 2022; Álvarez-Barragán et al., 2023). De manera que la dispersión de bacterias marinas a través de los hongos podría ser un mecanismo que ocurra en el sedimento de ventilas hidrotermales de mar profundo, pueden llevar a cabo una asociación física con los hongos para mejorar su desplazamiento.

La asociación física entre *Bacillus* sp. 10 y *P. dodgei* permite que *Bacillus* sp. 10 alcance una mayor distancia y mejore su dispersión. Estos microorganismos, fueron aislados del sedimento del sistema hidrotermal conocido como la Dorsal de Alarcón en el Sur del Golfo de California. Este sitio se caracteriza por ser un sistema de basalto, con fluidos negros y chimeneas de 33 m de altura, compuestas de sulfuros de hierro, cobre y zinc (Paduan et al., 2018). Tiene un sedimento de tipo lodo/barro tobáceo, se han detectado además fragmentos de obsidiana, cristales de plagioclasa rotos, foraminíferos bentónicos y planctónicos, diatomeas, radiolarios, espículas de esponja y gránulos fecales (Clague et al., 2018; Portner et al., 2015). En sitios extremos como este, la dispersión de los microorganismos a través del sedimento puede complicarse, sin embargo, los resultados obtenidos sugieren que las asociaciones físicas entre hongos y bacterias podrían facilitar este proceso.

Las bacterias que se encuentran en estos sitios pueden llevar a cabo procesos como la oxidación de azufre/sulfuro, reducción de azufre/sulfato, oxidación anaeróbica del

metano, reducción y oxidación de hierro, entre otras (Espinosa-Asuar et al., 2020). Por lo que su función es esencial en este ecosistema. En estudios acerca de los factores ambientales que influyen en las comunidades de bacterias, arqueas y hongos en el sedimento hidrotermal de la cuenca de Guaymas en el Golfo de California se encontró que las comunidades de arqueas y bacterias se encuentran en sitios específicos que dependen de gradientes térmicos y geoquímicos, mientras que las comunidades fúngicas dependen de la profundidad del sedimento, pues en los sedimentos más profundos se encontraron levaduras y hongos filamentosos (Ramírez et al., 2021). Por lo tanto, las interacciones móviles entre hongos y bacterias podrían influir en la dispersión bacteriana y los sitios en los que podemos encontrar a determinados grupos de bacterias, además, pueden ser importantes en la dinámica nutricional de las ventilas hidrotermales, ya que los hongos y las bacterias realizan procesos importantes en estos ecosistemas extremos.

8.2.2. Hongo

Estrategias utilizadas para la resolución de los obstáculos del laberinto

Observamos que *P. dodgei* ocupó toda el área de los canales del laberinto y resolvió los cinco obstáculos establecidos. En estas barreras espaciales, observamos que *P. dodgei* respondió a los cambios de dirección, los siguió y ocupó todos los espacios disponibles para su crecimiento. Esto tiene relación con las respuestas de crecimiento de los hongos observadas en otros estudios. Por ejemplo, se encontró que *N. crassa* y *A. mellea* pueden lidiar con barreras espaciales establecidas en dispositivos de microfluidos a pesar de presentar diferentes respuestas (Held et al., 2009).

Gracias a estudios que analizan el comportamiento de hongos filamentosos en estructuras microfluídicas que contienen una serie de obstáculos, se sabe que algunos hongos como *N. crassa* y *P. cinnabarinus* muestran dos comportamientos al lidiar con estructuras microfluídicas con obstáculos: memoria direccional y ramificación inducida por obstáculos (Held et al., 2019).

La memoria direccional ocurre cuando la hifa crece y cambia de dirección a causa de un obstáculo inamovible, sin embargo, una vez que la hifa recorre este obstáculo, recupera su dirección inicial de crecimiento. Se cree que en este proceso intervienen el citoesqueleto, el Spitzenkörper (funciona como un giroscopio y mantiene la

dirección de crecimiento inicial) e incluso, puede verse implicada la presión ejercida a la pared de la hifa por el obstáculo (Held et al., 2019). Es importante recordar que en las puntas de las hifas encontramos una maquinaria molecular responsable de este crecimiento y orientación: vesículas secretoras (responsables de una membrana para la extensión de la punta de la hifa), glicoproteínas y enzimas biosintéticas para conformar el esqueleto de la pared de quitina y glucano; a partir de microtúbulos las vesículas secretoras se envían al Spitzenkörper (Brand & Gow, 2009).

En la ramificación inducida por obstáculos, se ha observado que en *N. crassa* después de que una hifa tiene contacto con una estructura frontal, ocurre una ramificación en la punta de la hifa; mientras que para *P. cinnabarinus* se ha observado que esta ramificación ocurre detrás del ápice de la hifa. En este proceso, parece que están implicados la despolimerización de los microtúbulos y deformación de la pared celular por presión de turgencia isotrópica (Held et al., 2019). Es importante mencionar que, en algunos trabajos, se ha mencionado que algunos hongos llevan a cabo una ramificación de alta frecuencia, en la que el hongo explora caminos posibles, cualidad que observamos en *P. dodgei* (Hopke et al., 2021). Por consiguiente, los mecanismos moleculares mencionados anteriormente son los responsables de las diferentes respuestas de *P. dodgei* ante diferentes obstáculos espaciales y es gracias a estos procesos, que logró abarcar toda el área del laberinto y lidiar con los cinco obstáculos establecidos.

Con respecto a la respuesta de *P. dodgei* en cada uno de los cinco obstáculos establecidos, *P. dodgei* siguió la dirección de crecimiento del obstáculo con un ángulo de 35°. Esto tiene similitud con lo observado en estudios de microfluidos para evaluar la respuesta de *N. crassa* en diferentes obstáculos. Se ha notado que, en obstáculos agudos, las hifas de *N. crassa* siguen el contorno del obstáculo y presentan un comportamiento conocido como “*nestling*”. En este comportamiento, la hifa presenta una desviación cuando se encuentra con el obstáculo, el Spitzenkörper cambia su ubicación apical central a la pared del obstáculo y una vez que ha recorrido el obstáculo, la hifa recupera su dirección de crecimiento y el Spitzenkörper vuelve a su ubicación central (Held et al., 2019).

Con respecto al obstáculo con un ángulo de 90°, *P. dodgei* creció siguiendo la dirección de este obstáculo, una respuesta similar a lo observado en estudios de

microfluidos con *N. crassa* (Held et al., 2019). En el caso del obstáculo con un canal serpenteante, observamos que *P. dodgei* siguió la trayectoria de este obstáculo. De acuerdo con trabajos de microfluidos con *N. crassa*, se ha observado que, durante este tipo de obstáculos, el Spitzenkörper es un giroscopio que conserva la memoria direccional de crecimiento y el citoesqueleto se organizó por el camino de crecimiento más corto (Held et al., 2019).

En el obstáculo de pared frontal, las hifas crecieron siguiendo la dirección de las dos salidas laterales de este obstáculo antes de encontrarse con la pared frontal. En el caso del canal que presenta una forma de Y, *P. dodgei* también creció en dirección a las dos salidas que presentaba. En estudios de microfluidos, se ha observado un comportamiento diferente, en el cual las hifas presentan un proceso conocido como “*hit & split*”. En éste, las hifas se encuentran con la pared frontal y ocurre una ramificación de las hifas, dando origen a una hifa hija que sigue la dirección de crecimiento inicial después de encontrarse con la pared frontal. Durante el proceso de ramificación, el Spitzenkörper desaparece y posteriormente cada hifa cuenta con su Spitzenkörper en el centro de la hifa (Held et al., 2019). En este caso, *P. dodgei* presentó una respuesta diferente. Sin embargo, si creció en dirección a las dos salidas después de encontrarse con una pared frontal. Mientras que, en el obstáculo de canal con salida lateral, *P. dodgei* abarcó la salida lateral pero también continuó creciendo hacia enfrente. Las observaciones obtenidas en *N. crassa* son similares, ya que cuando una hifa pasa por una salida lateral, presenta una ramificación y crece en dirección a esa salida lateral pero también continúa creciendo en dirección apical (Held et al., 2019). De manera que el crecimiento de *P. dodgei* mostró semejanzas con el reportado para *N. crassa*, *P. cinnabarinus* y otros hongos y podría estar llevando a cabo estrategias como la memoria direccional y ramificación inducida por obstáculos.

Efecto del co-cultivo en la orientación de las hifas y la motilidad

Nuestros resultados denotan un efecto detrimental en la orientación y crecimiento de las hifas de *P. dodgei* asociadas a *Bacillus* sp. 10. Además, el micelio no abarcó todos los espacios del canal y los cambios de direcciones entre obstáculos fueron complicados de seguir. Con respecto a los cinco obstáculos evaluados, *P. dodgei* en interacción con *Bacillus* sp. 10, presentó problemas para seguir la dirección de crecimiento de todos los obstáculos. Además, necesitó más días para terminar de

recorrer el laberinto. *P. dodgei* en interacción con *Bacillus* sp. 10, no terminó de recorrer el obstáculo conocido como canal serpenteante.

Esto puede deberse a la secreción de una sustancia adhesiva por parte de *Bacillus* sp. 10. En algunos estudios, se ha observado que las bacterias pueden afectar el desarrollo de los hongos a través de la secreción de polisacáridos extracelulares, ya que, debido a estos compuestos, las bacterias pueden llevar a cabo comportamientos de necrotrofia y biotrofia extracelular. En la necrotrofia, las bacterias secretan proteínas o toxinas de bajo peso molecular que provocan que las hifas se permeabilicen y se lisen provocando que el metabolismo del hongo se inhiba, matando a las células fúngicas. Con respecto a la biotrofia extracelular, las bacterias no matan las hifas del hongo, sino que colonizan las superficies de las hifas, utilizan los nutrientes exudados por el hongo, pueden tolerar o suprimir la producción de metabolitos antibacterianos por parte del hongo y modular el metabolismo del hongo para liberar nutrientes (Leveau & Preston, 2008). Este tipo de estrategias bacterianas pueden ser las causantes de un efecto negativo en el crecimiento y orientación de *P. dodgei*.

Importancia en el ecosistema

Aún se continúa estudiando el papel ecológico de los hongos que habitan el sedimento de las ventilas hidrotermales, sin embargo, algunos estudios de diversidad a través de muestras del sedimento de estas ventilas han mostrado que estos organismos desempeñan funciones ecológicas como saprobios y establecen simbiosis con otros organismos (Velez et al., 2022). Además, se han estudiado las BFI en estos sitios y se ha encontrado que se presentan mayormente interacciones de tipo antagonista, sin embargo, también lograron encontrarse interacciones de tipo mutualista, lo que al parecer nos estaría demostrando que estas interacciones cambian con el tiempo y que el establecimiento de estas interacciones tendría influencia en el metabolismo de los organismos interactuantes (Hernández-Monroy, 2019).

Los mecanismos de dispersión de bacterias en el sedimento marino recientemente se están conociendo. Los hongos y las bacterias que habitan el sedimento de ventilas hidrotermales, participan en el flujo de nutrientes de estos sitios y hay estudios que analizan su diversidad y biogeografía. Sin embargo, los mecanismos de dispersión e

interacciones entre hongos y bacterias que habitan el sedimento de ventilas hidrotermales es poco conocido. Se requieren estudios que identifiquen estos procesos, así como también los componentes que permiten el establecimiento de la interacción entre bacterias y hongos y sus efectos en los organismos interactuantes. Finalmente, es necesario analizar el impacto de este tipo de interacciones de desplazamiento en la comunidad de organismos que habitan las ventilas hidrotermales.

9. CONCLUSIONES

- No observamos la formación de carreteras fúngicas entre *Bacillus* sp. 10 y *P. dodgei*, sino que presentaron una asociación física que en la literatura es conocida como “*hitchhiking*” y que beneficia el desplazamiento de *Bacillus* sp. 10, ya que gracias a su asociación con *P. dodgei*, incrementó su desplazamiento y superó más rápidamente los obstáculos del laberinto. Sin embargo, la adherencia de *Bacillus* sp. 10 a las hifas de *P. dodgei*, generó un efecto detrimental, provocando problemas en el crecimiento y orientación de las hifas, por lo que entre estos organismos encontramos características de una interacción antagonista.
- El “*hitchhiking*” puede ser un mecanismo de dispersión importante para las bacterias que habitan el sedimento de ventilas hidrotermales de mar profundo, influyendo en la dispersión de las bacterias y hongos, así como también, en el flujo de nutrientes de estos sitios.
- La construcción de un laberinto de acrílico que contiene diferentes obstáculos nos permitió analizar los mecanismos de dispersión, toma de decisiones y crecimiento de hongos y bacterias en interacción aislados del sedimento de la Dorsal de Alarcón y comparar sus respuestas. Sin embargo, esta herramienta requiere mejorar los métodos por los cuales se esteriliza con el fin de mejorar y continuar su uso.
- *Penicillium dodgei* superó los cinco obstáculos (canales con ángulos de 35°, ángulos de 90°, serpenteante, paredes frontales y salidas laterales) establecidos en el laberinto, abarcando todos los espacios disponibles para su crecimiento, por lo que consideramos que presentó una ramificación de alta frecuencia. Sin embargo, en interacción con *Bacillus* sp. 10, presentó problemas de direccionalidad, crecimiento y tarda más tiempo en abarcar todo el espacio de este obstáculo, por lo que consideramos que *P. dodgei* presenta una ramificación de baja frecuencia. Es importante mencionar que, en algunos obstáculos, *Bacillus* sp. 10, se separó de *P. dodgei* desplazándose por la orilla de los canales.

10. PERSPECTIVAS

Se requiere analizar con mayor detalle las interacciones hongo-bacteria aislados del sistema hidrotermal del sur del Golfo de California, con el fin de conocer cómo es la dinámica de estas interacciones, sus efectos en los organismos interactuantes y en el funcionamiento de las ventilas hidrotermales.

Se necesita realizar estudios que profundicen en las interacciones “*hitchhiking*” entre hongos y bacterias aisladas del sedimento de ventilas hidrotermales de mar profundo para comprender cuáles son sus efectos en el ecosistema, en la evolución y características de los organismos.

Son necesarios más estudios para saber la composición química y proceso de síntesis de la sustancia que utiliza *Bacillus* sp. 10 para adherirse a *P. dodgei* y entender mejor esta interacción.

Se recomienda ahondar en el estudio del esporiducto en *Bacillus* sp. 10.

Se sugiere que se realicen más estudios acerca de los mecanismos de respuesta ante diferentes obstáculos espaciales tanto en hongos como en bacterias y durante las interacciones que se establecen en estos organismos.

11. BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Abeysinghe, G., Kuchira, M., Kudo, G., Masuo, S., Ninomiya, A., Takahashi, K., Utad, A. S., Hagiwara, D., Nomura, N., Takaya, N., Obana, N., & Takeshita, N. (2020). Fungal mycelia and bacterial thiamine establish a mutualistic growth mechanism. *Life Science Alliance*, 3(12), 1–10. <https://doi.org/10.26508/LSA.202000878>
- Aleklett, K., & Boddy, L. (2021). Fungal behaviour: a new frontier in behavioural ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, 36(9), 787–796. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2021.05.006>
- Álvarez-Barragán, J., Cravo-Laureau, C. & Duran, R. (2022). Fungal-bacterial network in PAH-contaminated coastal marine sediment. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(48), 72718–72728. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21012-4>
- Álvarez-Barragán, J., Cravo-Laureau, C., Xiong, B., Wick, L. Y., & Duran, R. (2023). Marine Fungi Select and Transport Aerobic and Anaerobic Bacterial Populations from Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Contaminated Sediments. *Mbio*, 14(2), 1-16. <https://doi.org/10.1128/mbio.02761-22>
- Amend, A., Burgaud, G., Cunliffe, M., Edgcomb, V. P., Ettinger, C. L., Gutiérrez, M. H., Heitman, J., Hom, E. F. Y., Ianiri, G., Jones, A. C., Kagami, M., Picard, K. T., Quandt, C. A., Raghukumar, S., Riquelme, M., Stajich, J., Vargas-Muñiz, J., Walker, A. K., Yarden, O., & Gladfelter, A. S. (2019). Fungi in the marine environment: Open questions and unsolved problems. *MBio*, 10(2), 1-15. <https://doi.org/10.1128/mBio.01189-18>
- Andrews, J. H. (1995). Fungi and the evolution of growth form. *Canadian Journal of Botany*, 73(S1), 1206–1212. <https://doi.org/10.1139/b95-380>
- Asenova, E., Lin, H. Y., Fu, E., Nicolau, D. V., & Nicolau, D. V. (2016). Optimal fungal space searching algorithms. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 15(7), 613–618. <https://doi.org/10.1109/TNB.2016.2567098>

- Baranger, C., Fayeulle, A., & Le Goff, A. (2020). Microfluidic monitoring of the growth of individual hyphae in confined environments. *Royal Society Open Science*, 7(8), 1-14. <https://doi.org/10.1098/rsos.191535>
- Begon, M., Townsend, C. R. y Harper, J. L., (2006). *Ecology: From individuals to Ecosystems, 4th Edn.* Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.
- Bianciotto, V., Andreotti, S., Balestrini, R., Bonfante, P., & Perotto, S. (2001). Mucoïd mutants of the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* CHA0 show increased ability in biofilm formation on mycorrhizal and nonmycorrhizal carrot roots. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14(2), 255–260. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.2.255>
- Bianciotto, V., Minerdi, D., Perotto, S., & Bonfante, P. (1996). Cellular interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and rhizosphere bacteria. *Protoplasma*, 193, 123–131. <https://doi.org/10.1007/BF01276640>
- Bielčik, M., Aguilar-Trigueros, C. A., Lakovic, M., Jeltsch, F., & Rillig, M. C. (2019). The role of active movement in fungal ecology and community assembly. *Movement Ecology*, 7(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s40462-019-0180-6>
- Boddy, L. (1999). Saprotrophic cord-forming fungi: meeting the challenge of heterogeneous environments. *Mycologia*, 91(1), 13–32. <https://doi.org/10.1080/00275514.1999.12060990>
- Boddy, L., & Jones, T. H. (2007). Mycelial responses in heterogeneous environments: Parallels with macroorganisms. *Fungi in the Environment*, 25, 112–158. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511541797.007>
- Boddy, L., Wood, J., Redman, E., Hynes, J., & Fricker, M. D. (2010). Fungal network responses to grazing. *Fungal Genetics and Biology*, 47(6), 522–530. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2010.01.006>
- Bonfante, P., & Anca, I. A. (2009). Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: A network of interactions. *Annual Review of Microbiology*, 63, 363–383. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073504>

- Bordenstein, S. R., & Theis, K. R. (2015). Host biology in light of the microbiome: Ten principles of holobionts and hologenomes. *PLoS Biology*, 13(8), 1-23. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002226>
- Brand, A., & Gow, N. A. (2009). Mechanisms of hypha orientation of fungi. *Current Opinion in Microbiology*, 12(4), 350–357. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2009.05.007>
- Bravo, D., Cailleau, G., Bindschedler, S., Simon, A., Job, D., Verrecchia, E., & Junier, P. (2013). Isolation of oxalotrophic bacteria able to disperse on fungal mycelium. *FEMS Microbiology Letters*, 348(2), 157–166. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12287>
- Brazelton, W. (2017). Hydrothermal vents. *Current Biology*, 27(11), 424-427. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.022>
- Brunt, J., Cross, K. L., & Peck, M. W. (2015). Apertures in the *Clostridium sporogenes* spore coat and exosporium align to facilitate emergence of the vegetative cell. *Food Microbiology*, 51, 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.04.013>
- 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. <http://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01886.x>
- Chevance, F. F. V., & Hughes, K. T. (2008). Coordinating assembly of a bacterial macromolecular machine. *Nature Reviews Microbiology*, 6(6), 455–465. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1887>
- Clague, D. A., Caress, D. W., Dreyer, B. M., Lundsten, L., Paduan, J. B., Portner, R. A., Spelz-Madero, R., Bowles, J. A., Castillo, P. R., Guardado-France, R., Le Saout, M., Martin, J. F., Santa Rosa-del Río, M. A., & Zierenberg, R. A. (2018). Geology of the Alarcon Rise, Southern Gulf of California. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 19(3), 807–837. <https://doi.org/10.1002/2017GC007348>

- Deveau, A., Bonito, G., Uehling, J., Paoletti, M., Becker, M., Bindschedler, S., Hacquard, S., Hervé, V., Labbé, J., Lastovetsky, O. A., Mieszkin, S., Millet, L. J., Vajna, B., Junier, P., Bonfante, P., Krom, B. P., Olsson, S., van Elsas, J. D., & Wick, L. Y. (2018). Bacterial-fungal interactions: Ecology, mechanisms and challenges. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(3), 335–352. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy008>
- Dick, G. J. (2019). The microbiomes of deep-sea hydrothermal vents: distributed globally, shaped locally. *Nature Reviews Microbiology*, 17(5), 271–283. <http://doi.org/10.1038/s41579-019-0160-2>
- Dowson, C. G. Rayner, A. D. M., & Boddy, L. (1989). Spatial dynamics and interactions of the woodland fairy ring fungus, *Clitocybe nebularis*. *New Phytologist* 111(4), 699–705. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1989.tb02365.x>
- 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*, 149–166. https://doi.org/10.1007/978-3-030-46087-7_7
- Fall, R., Kearns, D. B., & Nguyen, T. (2006). A defined medium to investigate sliding motility in a *Bacillus subtilis* flagella-less mutant. *BMC Microbiology*, 6(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-6-31>
- Finkelshtein, A., Roth, D., Jacob, E. Ben, & Ingham, C. J. (2015). Bacterial swarms recruit cargo bacteria to pave the way in toxic environments. *MBio*, 6(3), 1–10. <https://doi.org/10.1128/mBio.00074-15>
- Frey-Klett, P., Burlinson, P., Deveau, A., Barret, M., Tarkka, M., & Sarniguet, A. (2011). Bacterial-Fungal Interactions: Hyphens between Agricultural, Clinical, Environmental, and Food Microbiologists. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 75(4), 583–609. <https://doi.org/10.1128/mnbr.00020-11>

- Fricker, M.D., Heaton, L.L.M., Jones, N.S. and Boddy, L. (2017). The Mycelium as a Network. *The Fungal Kingdom*, 335-367. <http://doi.org/10.1128/9781555819583.ch.15>
- Fukasawa, Y., Savoury, M., & Boddy, L. (2020). Ecological memory and relocation decisions in fungal mycelial networks: responses to quantity and location of new resources. *The ISME Journal*, 14(2), 380–388. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0536-3>
- Goffredi, S. K., Johnson, S., Tunnicliffe, V., Caress, D., Clague, D., Escobar, E., Lundsten, L., Paduan, J. B., Rouse, G., Salcedo, D. L., Soto, L. A., Spelz-Madero, R., Zierenberg, R., & 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), 1-10. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0817>
- Groover, M. P. (1997). *Fundamentos de manufactura moderna: materiales, procesos y sistemas, 1ra ed.*, Estado de México, México: Pearson Educación.
- Grossart, H. P., Riemann, L., & Azam, F. (2001). Bacterial motility in the sea and its ecological implications. *Aquatic Microbial Ecology*, 25(3), 247–258. <https://doi.org/10.3354/ame025247>
- Hamzah, N., Kasmuri, N., Tao, W., Singhal, N., Padhye, L., & Swift, S. (2020). Effect of rhamnolipid on the physicochemical properties and interaction of bacteria and fungi. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51, 1317–1326. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00295-0>
- Hanson, K. L., Nicolau, D. V., Filipponi, L., Wang, L., Lee, A. P., & Nicolau, D. V. (2006). Fungi use efficient algorithms for the exploration of microfluidic networks. *small*, 2(10), 1212–1220. <https://doi.org/10.1002/sml.200600105>
- Haq, I. U., Zhang, M., Yang, P., & Van Elsas, J. D. (2014). The interactions of bacteria with fungi in soilP: Emerging concepts. In *Advances in Applied Microbiology*, 89, 185-215. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800259-9.00005-6>

- Haraldsson, M., Gerphagnon, M., Bazin, P., Colombet, J., Tecchio, S., Sime-Ngando, T., & Niquil, N. (2018). Microbial parasites make cyanobacteria blooms less of a trophic dead end than commonly assumed. *The ISME Journal*, 12(4), 1008–1020. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0045-9>
- Harshey, R. M. (2003). Bacterial Motility on a Surface: Many Ways to a Common Goal. *Annual Review of Microbiology*, 57(1), 249–273. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.57.030502.091014>
- Held, M., Binz, M., Edwards, C., & Nicolau, D. V. (2009). Dynamic behaviour of fungi in microfluidics: a comparative study. *Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues VII*, 7182, 219-227. SPIE. <https://doi.org/10.1117/12.822464>
- Held, M., Kaspar, O., Edwards, C., & Nicolau, D. V. (2019). Intracellular mechanisms of fungal space searching in microenvironments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(27), 13543–13552. <https://doi.org/10.1073/pnas.1816423116>
- Hernández-Monroy J. A. (2019). 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.
- Hernández-Monroy, J. A. (2023). Transcriptómica comparada de las interacciones entre hongos (*Aspergillaceae* sp. y *Eurotiales* sp.) y bacterias (*Bacillus* sp.) en sistemas hidrotermales. [Tesis de maestría], Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hopke, A., Mela, A., Ellett, F., Carter-House, D., Peña, J. F., Stajich, J. E., Altamirano, S., Lovett, B., Egan, M., Kale, S., Kronholm, I., Guerette, P., Szewczyk, E., McCluskey, K., Breslauer, D., Shah, H., Coad, B. R., Momany, M., & Irimia, D. (2021). Crowdsourced analysis of fungal growth and branching on microfluidic platforms. *PLoS ONE*, 16(9), 1-20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257823>

- Inghama, C. J., Kalismand, O., Finkelshteind, A., & Ben-Jacob, E. (2011). Mutually facilitated dispersal between the nonmotile fungus *Aspergillus fumigatus* and the swarming bacterium *Paenibacillus vortex*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(49), 19731–19736. <https://doi.org/10.1073/pnas.1102097108>
- Jacob, E. Ben, Aharonov, Y., & Shapira, Y. (2004). Bacteria harnessing complexity. *Biofilms*, 1(4), 239–263. <https://doi.org/10.1017/s1479050505001596>
- Jacob, E. Ben, Becker, I., Shapira, Y., & Levine, H. (2004). Bacterial linguistic communication and social intelligence. *Trends in Microbiology*, 12(8), 366–372. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.06.006>
- Jarrell, K. F., & McBride, M. J. (2008). The surprisingly diverse ways that prokaryotes move. *Nature Reviews Microbiology*, 6(6), 466–476. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1900>
- Jautzus, T., van Gestel, J. & Kovács, Á.T. (2022). Complex extracellular biology drives surface competition during colony expansion in *Bacillus subtilis*. *The ISME Journal*, 16(10), 2320–2328. <https://doi.org/10.1038/s41396-022-01279-8>
- Kjeldgaard, B., Listian, S. A., Ramaswamhi, V., Richter, A., Kiesevalter, H. T., & Kovács, Á. T. (2019). Fungal hyphae colonization by *Bacillus subtilis* relies on biofilm matrix components. *Biofilm*, 1, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2019.100007>
- Kohlmeier, S., Smits, T. H. M., Ford, R. M., Keel, C., Harms, H., & Wick, L. Y. (2005). Taking the fungal highway: Mobilization of pollutant-degrading bacteria by fungi. *Environmental Science and Technology*, 39(12), 4640–4646. <https://doi.org/10.1021/es047979z>
- Kovács, Á. T., Grau, R., & Pollitt, E. J. G. (2017). Surfing of bacterial droplets: *Bacillus subtilis* sliding revisited. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(42), E8802-E8802. <https://doi.org/10.1073/pnas.1710371114>

- Le Calvez, T., Burgaud, G., Mahé, S., Barbier, G., & Vandenkoornhuysse, P. (2009). Fungal diversity in deep-sea hydrothermal ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(20), 6415-6421. <https://doi.org/10.1128/AEM.00653-09>
- Leveau, J. H. J., & Preston, G. M. (2008). Bacterial mycophagy: Definition and diagnosis of a unique bacterial-fungal interaction. *New Phytologist*, 177(4), 859–876. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02325.x>
- Majumdar, S., & Pal, S. (2017). Bacterial intelligence: imitation games, time-sharing, and long-range quantum coherence. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 11, 281–284. <https://doi.org/10.1007/s12079-017-0394-6>
- Marijuán, P. C., Navarro, J., & del Moral, R. (2010). On prokaryotic intelligence: Strategies for sensing the environment. *BioSystems*, 99(2), 94–103. <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2009.09.004>
- Mitchell, J. G., & Kogure, K. (2006). Bacterial motility: Links to the environment and a driving force for microbial physics. *FEMS Microbiology Ecology*, 55(1), 3–16. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2005.00003.x>
- Money, N. P. (2021). Hyphal and mycelial consciousness: the concept of the fungal mind. *Fungal Biology*, 125(4), 257–259. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.02.001>
- Monteil, C. L., Vallenet, D., Menguy, N., Benzerara, K., Barbe, V., Fouteau, S., Cruaud, C., Floriani, M., Viollier, E., Adryanczyk, G., Leonhardt, N., Faivre, D., Pignol, D., López-García, P., Weld, R. J., & Lefevre, C. T. (2019). Ectosymbiotic bacteria at the origin of magnetoreception in a marine protist. *Nature Microbiology*, 4(7), 1088–1095. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0432-7>
- Münker, T. J. A. G., van de Vijfeijken, S. E. C. M., Mulder, C. S., Vespasiano, V., Becking, A. G., Kleverlaan, C. J., Becking, A. G., Dubois, L., Karssemakers, L. H. E., Milstein, D. M. J., van de Vijfeijken, S. E. C. M., Depauw, P. R. A. M., Hoefnagels, F. W. A., Vandertop, W. P., Kleverlaan, C. J., Münker, T. J. A. G., Maal, T. J. J., Nout, E., Riool, M., & Zaat, S. A. J. (2018). Effects of sterilization on the mechanical properties of poly(methyl methacrylate) based personalized

- medical devices. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 81, 168–172. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2018.01.033>
- Muok, A. R., & Briegel, A. (2021). Intermicrobial Hitchhiking: How Nonmotile Microbes Leverage Communal Motility. *Trends in Microbiology*, 29(6), 542–550. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.10.005>
- Murray, A. C., & Woodward, S. (2003). In vitro interactions between bacteria isolated from Sitka spruce stumps and *Heterobasidion annosum*. *Forest Pathology*, 33(1), 53–67. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0329.2003.00307.x>
- Nakagaki, T., Yamada, H., & Tòth, A. (2000). Maze-solving by an amoeboid organism. *Nature*, 407(6803), 470–470. <https://doi.org/10.1038/35035159>
- Nathan, R., Getz, W. M., Revilla, E., Holyoak, M., Kadmon, R., Saltz, D., & Smouse, P. E. (2008). A movement ecology paradigm for unifying organismal movement research. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(49), 19052–19059. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800375105>
- Nutzmann HW, Reyes-Domínguez Y, Scherlach K, Schroekh V, Horn F, Gacek A, Schumann J, Hertweck C, Strauss J, Brackhage AA (2011). Bacteria-induced natural product formation in the fungus *Aspergillus nidulans* requires Saga/Ada-mediated histone acetylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(34), 14282–14287. <https://doi.org/10.1073/pnas.1103523108>
- Paduan, J. B., Zierenberg, R. A., Clague, D. A., Spelz, R. M., Caress, D. W., Troni, G., Thomas, H., Glessner, J., Lilley, M. D., Lorenson, T., Lupton, J., Neumann, F., Santa Rosa-del Rio, M. A., & 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. <https://doi.org/10.1029/2018GFC007771>
- Pantoja Alor, J., & Gómez Caballero, J. A. (2004). Los sistemas hidrotermales y el origen de la vida. *Ciencias*, (075), 14–22. <http://www.revistacienciasunam.com/es/78-revistas/revista-ciencias-75/631-los-sistemas-hidrotermales-y-el-origen-de-la-vida.html>

- Persat, A., Nadell, C. D., Kim, M. K., Ingremeau, F., Siryaporn, A., Drescher, K., Wingreen, N. S., Bassler, B. L., Gitai, Z., & Stone, H. A. (2015). The mechanical world of bacteria. *Cell*, 161(5), 988–997. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.005>
- Pion, M., Bshary, R., Bindschedler, S., Filippidou, S., Wick, L. Y., Job, D., & Junier, P. (2013). Gains of bacterial flagellar motility in a fungal world. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(22), 6862–6867. <https://doi.org/10.1128/AEM.01393-13>
- Portner, R. A., Dreyer, B. M., Clague, D. A., Spelz, R., Lowernstern, J. B., Paduan, J. B., & Carey, S. (2015). Rhyolite eruption on a mid-ocean ridge: Alarcon Rise, Gulf of California. *In Geological Society of America Annual Meeting, Abstracts with programs* (Vol. 47, No. 7, p. 380).
- Ramírez, G. A., Mara, P., Sehein, T., Wegener, G., Chambers, C. R., Joye, S. B., Peterson, R. N., Philippe, A., Burgaud, G., Edgcomb, V. P., & Teske, A. P. (2021). Environmental factors shaping bacterial, archaeal and fungal community structure in hydrothermal sediments of Guaymas Basin, Gulf of California. *PLoS ONE*, 16(9), 1-31. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256321>
- Rebata-Landa, V., & Santamarina, J. C. (2006). Mechanical limits to microbial activity in deep sediments. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 7(11), 1–12. <https://doi.org/10.1029/2006GC001355>
- Riquelme, M. (2013). Tip growth in filamentous fungi: A road trip to the apex. *Annual Review of Microbiology*, 67, 587–609. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155652>
- Riquelme, M., & Sánchez-León, E. (2014). The Spitzenkörper: A choreographer of fungal growth and morphogenesis. *Current Opinion in Microbiology*, 20, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.04.003>
- 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), 1-16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224698>
- 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, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2021.103609>
- Schulze, S., Schleicher, J., Guthke, R., & Linde, J. (2016). How to predict molecular interactions between species?. *Frontiers in microbiology*, 7, 1-13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00442>
- Sugiura, H., Nagase, A., Oiki, S., Mikami, B., Watanabe, D., & Hashimoto, W. (2020). Bacterial inducible expression of plant cell wall-binding protein YesO through conflict between *Glycine max* and saprophytic *Bacillus subtilis*. *Scientific Reports*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75359-0>
- Soto, L., & Estradas, A. (2013). La exploración en el mar profundo de ambientes extremos: sistemas hidrotermales. *La Frontera Final: El Océano Profundo*, 85–105.
- Steffan, B. N., Venkatesh, N., & Keller, N. P. (2020). Let's get physical: Bacterial-fungal interactions and their consequences in agriculture and health. *Journal of Fungi*, 6(4), 1-18. <https://doi.org/10.3390/jof6040243>
- Steinberg, G. (2007). Hyphal growth: A tale of motors, lipids, and the Spitzenkörper. *Eukaryotic Cell*, 6(3), 351–360. <https://doi.org/10.1128/EC.00381-06>
- Tokárová, V., Perumal, A. S., Nayak, M., Shum, H., Kašpar, O., Rajendran, K., Mohammadi, M., Tremblay, C., Gaffney, E. A., Martel, S., Nicolau, D. V., & Nicolau, D. V. (2021). Patterns of bacterial motility in microfluidics-confining environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(17), 1-12. <https://doi.org/10.1073/pnas.2013925118>
- Tweedy, L., Thomason, P. A., Paschke, P. I., Martin, K., Machesky, L. M., Zagnoni, M., & Insall, R. H. (2020). Seeing around corners: Cells solve mazes and

- respond at a distance using attractant breakdown. *Science*, 369(6507), 1-10.
<https://doi.org/10.1126/science.aay9792>
- Uehling, J. K., Entler, M. R., Meredith, H. R., Millet, L. J., Timm, C. M., Aufrecht, J. A., Bonito, G. M., Engle, N. L., Labbé, J. L., Doktycz, M. J., Retterer, S. T., Spatafora, J. W., Stajich, J. E., Tschaplinski, T. J., & Vilgalys, R. J. (2019). Microfluidics and Metabolomics Reveal Symbiotic Bacterial–Fungal Interactions Between *Mortierella elongata* and *Burkholderia* Include Metabolite Exchange. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1-13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02163>
- Uroz, S., Calvaruso, C., Turpault, M. P., & Frey-Klett, P. (2009). Mineral weathering by bacteria: ecology, actors and mechanisms. *Trends in Microbiology*, 17(8), 378–387. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.05.004>
- Valenzuela, S., Banderas, A., Jerez, C. A., & Guiliani, N. (2007). Cell-cell communication in bacteria: A promising new approach to improve bioleaching efficiency?. *Microbial Processing of Metal Sulfides*, 253–264. https://doi.org/10.1007/1-4020-5589-7_13
- Velez, P., Espinosa-Asuar, L., Figueroa, M., Gasca-Pineda, J., Aguirre-von-Wobeser, E., Eguiarte, L. E., Hernandez-Monroy, A., & Souza, V. (2018). Nutrient dependent cross-kingdom interactions: Fungi and bacteria from an oligotrophic desert oasis. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01755>
- 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*, 9, 1-15. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.802634>
- Virag, A., & Harris, S. D. (2006). The Spitzenkörper: a molecular perspective. *Mycological Research*, 110(1), 4–13. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2005.09.005>

- Warmink, J. A., & Van Elsas, J. D. (2009). Migratory response of soil bacteria to *Lyophyllum* sp. strain Karsten In soil microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(9), 2820–2830. <https://doi.org/10.1128/AEM.02110-08>
- Warmink, J. A., Nazir, R., Corten, B., & van Elsas., J. D. (2011). Hitchhikers on the fungal highway: The helper effect for bacterial migration via fungal hyphae. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(4), 760–765. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.12.009>
- Wong, P. T. W., Griffin, D. M., (1976). Bacterial movement at high matric potentials-II In fungal colonies. *Soil Biology and Biochemistry*, 8(3), 219-223. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(76\)90007-9](https://doi.org/10.1016/0038-0717(76)90007-9)
- Worrich, A., Stryhanyuk, H., Musat, N., König, S., Banitz, T., Centler, F., Frank, K., Thullner, M., Harms, H., Richnow, H. H., Miltner, A., Kästner, M., & Wick, L. Y. (2017). Mycelium-mediated transfer of water and nutrients stimulates bacterial activity in dry and oligotrophic environments. *Nature Communications*, 8(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/ncomms15472>
- Yang, P., & van Elsas, J. D. (2018). Mechanisms and ecological implications of the movement of bacteria in soil. *Applied Soil Ecology*, 129, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.04.014>
- Yavuz, C., Oliaei, S. N. B., Cetin, B., & Yesil-Celiktas, O. (2016). Sterilization of PMMA microfluidic chips by various techniques and investigation of material characteristics. *Journal of Supercritical Fluids*, 107, 114–121. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.08.019>
- Young, K. D. (2007). Bacterial morphology: why have different shapes?. *Current Opinion in Microbiology*, 10(6), 596–600. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2007.09.009>
- Zhang, Y., Kastman, E. K., Guasto, J. S., & Wolfe, B. E. (2018). Fungal networks shape dynamics of bacterial dispersal and community assembly in cheese rind microbiomes. *Nature Communications*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02522-z>

- Zheng, S., Bawazir, M., Dhall, A., Kim, H. E., He, L., Heo, J., & Hwang, G. (2021). Implication of Surface Properties, Bacterial Motility, and Hydrodynamic Conditions on Bacterial Surface Sensing and Their Initial Adhesion. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 1-22. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.643722>
- Zhou, W., Le, J., Chen, Y., Cai, Y., Hong, Z., & Chai, Y. (2019). Recent advances in microfluidic devices for bacteria and fungus research. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 112, 175–195. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.024>