

Búsqueda de factores de virulencia y genes implicados en la síntesis de pared celular en especies ambientales del género *Sporothrix*

Helianet Guadalupe Villagómez-Yépez², Darío Abel Baruch-Martínez², Beatriz Adabelle Valderrama-Colunga¹, Verania Jazmín Arvizu-Rubio², Armando Giovanni Díaz-Nachez², Diana Fernanda Mendoza-Reyes², Ana Paulina Vargas-Macias¹, Manuela Gómez-Gaviria¹, Héctor Manuel Mora-Montes¹

¹Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato

²Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato

Resumen

El género *Sporothrix* comprende al menos 53 especies reportadas, las cuales se encuentran divididas en dos clados: el clado clínico y por el clado ambiental. La patogenicidad del clado ambiental en mamíferos es raramente observada y a la fecha, solamente habían sido reportados dos casos en humanos y dos en gatos atribuidos a miembros del complejo *S. pallida*. *Sporothrix* posee factores de virulencia entre los cuales se conocen la termo-tolerancia, el dimorfismo; la presencia de melanina, proteinasas extracelulares e intracelulares y los biofilms. Mediante un análisis bioinformático se encontraron similitudes entre las secuencias proteicas codificadas por los genes implicados en la virulencia de hongos patógenos, así como se encontraron similitudes altas entre genes de la pared celular con especies del género *Sporothrix*. La alta similitud indicaría que las secuencias se encuentran conservadas y que probablemente cumplen una misma función en los organismos. Sin embargo, es importante corroborar los datos obtenidos de manera experimental.

Palabras clave: *Sporothrix*, clado ambiental, factores de virulencia, pared celular, análisis bioinformático.

Introducción

Sporothrix es un género de hongos saprófitos, dividido según sus características ecológicas en dos clados, el clado clínico o el clado patogénico formado por *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix schenckii*, *Sporothrix globosa* y *Sporothrix luriei*; y el clado ambiental conformado por el complejo de *Sporothrix pallida* (*Sporothrix chilensis*, *Sporothrix mexicana*, *Sporothrix humicola* y *Sporothrix pallida*) y por el complejo de *Sporothrix stenoceras* (Rodrigues et al., 2020; Morgado et al., 2022). Estos organismos crecen principalmente en plantas, madera, restos vegetales y materia orgánica en descomposición. Los hongos de este género son en su mayoría termodimórficos, es decir, que pueden llegar a crecer de forma filamentosa a 25 °C y en forma de levadura a 37 °C (Iglesias-Osores et al., 2019; de Carvalho et al. 2021).

Todas las especies pertenecientes al clado patogénico, son capaces de causar esporotricosis, una micosis subcutánea de naturaleza crónica que comienza en el momento en que la piel sufre una inoculación traumática con materia orgánica en descomposición que tienen presencia del hongo. (Legarraga et al., 2016) o por zoonosis, siendo el gato el principal vector. La esporotricosis puede presentar diferentes manifestaciones clínicas, siendo la forma linfocutánea y cutánea fija las más comunes. Las formas extracutánea y diseminada son más comunes en pacientes inmunocomprometidos (García-Carnero et al. 2021). Estas formas clínicas dependerán tanto del patógeno como de la respuesta inmune que el hospedero sea capaz de ofrecer. (Amado & Bonifaz et al. 2011).

Fuera del clado clínico, la patogenicidad del clado ambiental en mamíferos es raramente observada y solo se han reportado pocos casos en la literatura (particularmente hospederos inmunocomprometidos) acerca de infecciones causadas por miembros de los complejos de *S. pallida* y *S. stenoceras* (de Carvalho et al. 2021, Rodrigues et al., 2020, Nessler et al., 2019). Estas infecciones principalmente se han observado en gatos tal como se describió en un caso particular de un gato infectado por una especie del complejo *S. pallida* (Thomson et al., 2019). Hasta la fecha, solamente han sido reportados dos casos en humanos y dos en gatos atribuidos a miembros del complejo *S. pallida* (Makri et al., 2020)

Tanto en la patogenicidad como en la virulencia de *Sporothrix*, la pared celular es un factor de suma importancia ya que protege a la célula de cambios drásticos en el ambiente externo, además de ser el primer punto de contacto con el hospedero (Mora-Montes et al., 2009). La pared celular de *S. schenckii* está compuesta de glucanos, galactomananos, ramnomananos, quitina, glicoproteínas, glicolípidos y melanina (Travassos L. R., Lloyd K. O. et al. 1980). Parece ser que una composición adecuada de la pared celular es de gran ayuda en el estrés ambiental y si así lo requiere la naturaleza de la especie, en su virulencia (Madrid et al., 2010; López-Esparza et al., 2013).

A su vez, se sabe que hongos de genero *Sporothrix* poseen factores de virulencia (elementos del patógeno que contribuye al daño del hospedador) entre los cuales los más estudiados del clado clínico son las proteínas o componentes de la pared celular involucradas en la adherencia del hongo al hospedero, la termo-tolerancia o el dimorfismo; la melanina, proteinasas extracelulares e intracelulares y los biofilms. (García-Carnero et al. 2021).

Por otra parte, otra característica de estos organismos es que pueden existir secuencias conservadas, es decir, la secuencia de una proteína que está implicada en la virulencia puede estar presente en *Sporothrix schenckii* y en *Candida albicans*, y a su vez, la misma secuencia puede estar presente en varias especies del género *Sporothrix*, por ejemplo, *Sporothrix inflata*; esto podría estar relacionado directamente con la ortología de genes de distintos organismos, al existir especies que compartan un antepasado en común. La importancia de esto recae en la posibilidad de analizar una serie de genes de determinados hongos patógenos y ver si estos se encuentran presentes en *Sporothrix schenckii* y a su vez en una especie determinada del mismo género, lo que podría sugerir que se esté ante una proteína conservada o bien indicios de una función concreta en la especie a comparar.

Sin embargo, pocos estudios se han enfocado en la variación morfológica y fisiológica entre las especies que conforman el complejo de *Sporothrix*. Aunque, estudios recientes han demostrado que especies morfológicamente similares de este complejo pueden diferir en sus características fisiológicas (Marimon et. Al., 2007; Rodrigues et.al, 2014). Por otra parte, en este trabajo se buscó realizar una predicción de los posibles factores de virulencia y genes implicados en la síntesis de pared celular del clado ambiental del género *Sporothrix*.

Materiales y métodos

Se realizaron análisis bioinformáticos para la comparación de las proteínas de distintos hongos patógenos, entre ellos *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* y *Cryptococcus neoformans* con diferentes especies de *Sporothrix*, utilizando la base de datos National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Búsqueda Comparativa de proteínas en *Sporothrix schenckii* 1099-18

Se identificaron las proteínas correspondientes a 33 genes involucrados en la síntesis de la pared celular que se encargan de la síntesis de la quitina, de β -glucanos y de N- y O- glicosilación de *Candida albicans*. Además, se identificaron 106 genes involucrados en la virulencia de *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* y *Cryptococcus neoformans*.

1. Mediante el uso de la base de datos NCBI, se buscaron las proteínas de *Candida albicans* con el fin de obtener su secuencia FASTA.
2. Una vez obtenida la secuencia FASTA se corrió un Blastp para poder comparar la secuencia peptídica de *Candida albicans* con la ya anotada en *S. schenckii*, para esto se colocó el nombre *Sporothrix schenckii* 1099-18 en el apartado de organism, para posteriormente compararla en un segundo Blastp, con otras especies del género *Sporothrix* (*S. Mexicana*, *S. insectorum*, *S. pallida*, *S. luriei*, *S. inflata* y *S. humicola*)
3. Los datos recopilados de cada blast fueron: identidad (%), similitud positiva (%), E. value y locus tag de cada proteína encontrada. Resultados que se reportaron en tablas que nos permitieron ver las similitudes correspondientes entre cada especie.

Búsqueda Comparativa de proteínas en especies de *Sporothrix* con genoma anotado

A partir de los datos anteriormente obtenidos, se realizó un segundo Blast para aquellas especies en las que su genoma está anotado, siguiendo los pasos que se encuentran a continuación:

1. Se abrió la información relacionada a la proteína con mayor porcentaje de similitud y se seleccionó el apartado "Sequence ID" para abrir una nueva ventana en la cual pudimos obtener la nueva secuencia FASTA de interés.
2. Se corrió el Blast colocando esta vez en el apartado de Organism, el nombre de la especie *Sporothrix* que se deseaba comparar.
3. Para esta sección fue necesario recopilar los siguientes datos: identidad (%), similitud positiva (%), locus tag y el E. value.
4. Para este caso se tomaron en cuenta las especies de: *S. insectorum*

Búsqueda Comparativa de proteínas en especies de *Sporothrix* con genoma no anotado

En caso de que el genoma de la especie en cuestión no esté anotado se debe realizar una búsqueda diferente a la explicada en el punto anterior, de lo contrario no se encontrarán resultados. La metodología usada se describe a continuación:

1. En la página principal del NCBI se colocó el nombre del hongo de interés y se abrió la opción BLAST.
2. Se colocó la segunda ventana marcada como tblastn
3. En dicha ventana se introdujo la secuencia FASTA obtenida en la primera parte de **Búsqueda Comparativa de proteínas en *Sporothrix schenckii* 1099-18** descrita en este artículo.
4. Se corrió el Blast y se recopilaron los siguientes datos: Cobertura (%), identidad(%), similitud positiva(%), gaps(%), E. value, secuencia ID y rango.
5. Para este caso se tomaron en cuenta las especies de *S. pallida*, *S. mexicana*, *S. humicola*, *S. luriei* y *S. inflata*.

Resultados

Proteínas involucradas en la virulencia de C. albicans con ortólogos en S. schenckii y en las especies ambientales S. insectorum, S. mexicana, S. inflata, S. pallida, S. humicola y S. luriei.

En el presente trabajo se examinaron 68 proteínas involucradas en la virulencia de *Candida albicans* de las cuales solamente 53 presentaron ortólogos en *S. schenckii* y a su vez en el complejo de especies ambientales conformado por *S. insectorum*, *S. mexicana*, *S. inflata*, *S. pallida*, *S. humicola* y *S. luriei*; mientras que no se encontró similitud significativa con 13 de ellas y 2 no se encontraron en la base de datos del NCBI. (Ver tabla1)

El mayor % de similitud entre *C. albicans*, *S. schenckii* y de *S. schenckii* con *S. luriei* fue encontrada en una proteína superóxido dismutasa de cobre/zinc, codificada por el gen *sod1*, con un valor de 83% con *S. schenckii* y de 100% respectivamente con *S. luriei*. Por su parte, entre *C. albicans*, *S. schenckii* y *S. humicola* fue encontrada en una proteína GTPasa, codificada por el gen *Rho1*, con un valor de 73% con *S. schenckii* y 100% respectivamente con *S. humicola*. Mientras que entre *C. albicans*, *S. schenckii*, *S. inflata*, *S. insectorum* y *S. pallida* fue encontrada en una Dolicol-fosfato manosiltransferasa, codificada por el gen *Dpm2*, con un valor de 69%, 100%, 100% y 100% de similitud respectivamente con cada especie. En cambio, entre *C. albicans*, *S. schenckii* y *S. mexicana* fue encontrada en una proteína de choque térmico, codificada por el gen *hsp60*, con un valor de 87% y 99% respectivamente.

Así mismo, al comparar los % de similitud entre *C. albicans*, *S. schenckii* y *S. insectorum*, *S. mexicana*, *S. inflata*, *S. pallida*, *S. humicola* y *S. luriei*, se encontró que la proteína de choque térmico Hsp70, presentó el mayor valor en todas las especies ya mencionadas al tener un porcentaje de similitud del 89% con *S. schenckii*, 97% con *S. luriei*, un 98% con *S. humicola*, un 97% con *S. inflata*, un 88% con *S. insectorum*, 93% con *S. mexicana* y 98% con *S. pallida* (ver tabla 1).

Los valores arrojados por la herramienta BLAST para las proteínas comparadas en esta sección se encuentran desglosados para su consulta en **tabla 1**. En los valores obtenidos mediante la herramienta BLAST en la **Tabla 1** en aquellas proteínas en las que no se encontró una similitud significativa se le colocó "x", mientras que para los genes que no se encontró en ninguna especie se colocó "-". De igual forma, en todos los resultados se obtuvo un valor de E.value mayor o igual a cero.

Tabla 1. Proteínas implicadas en los factores de virulencia de *C. albicans* y sus posibles ortólogos en *S. schenckii*, *S. insectorum*, *S. mexicana*, *S. inflata*, *S. pallida*, *S. humicola* y *S. luriei*. (NCBI).

Proteína de <i>C. albicans</i>	% de similitud con <i>S. schenckii</i>	% similitud <i>S. inflata</i>	% similitud <i>S. pallida</i>	% similitud <i>S. luriei</i>	% similitud <i>S. mexicana</i>	% similitud <i>S. insectorum</i>	% similitud <i>S. humicola</i>
Hgc1	48	95	93	95	93	92	93
Mp65	56	86	90	94	90	75	89
Phr1	65	96	93	90	87	87	93
Hsp90	88	98	98	98	98	97	98
Ndt80	50	89	91	97	83	70	91
Sap1	54	93	93	94	93	87	92
Sap2	53	93	93	94	93	87	92
Sap3	55	93	93	94	93	87	92
Sap4	51	93	93	94	93	87	92
Sap5	53	93	93	94	93	87	92
Sap6	53	93	93	94	93	87	92
Sap7	48	93	93	94	93	87	92
Sap8	53	93	93	94	93	87	92
Sap9	52	93	93	94	93	87	92
Plb1	57	92	89	93	91	83	89
Plb5	56	92	89	93	91	83	89
Genes involucrados en la virulencia de <i>C. albicans</i>							
Lip8	50	x	87	96	54	80	87
Hsp70	89	97	98	97	93	88	98
Hsp60	87	98	99	95	99	94	99
Icl1	74	98	97	99	97	95	97
Mls1	74	98	98	99	94	62	99
Cat1	75	97	93	99	92	95	96
Sod1	83	98	88	100	89	69	95
Sod4/Sod5	56	77	68	80	69	89	68
Yhb1	46	81	84	92	86	67	84
Cho1	70	83	82	81	97	72	82
Chs1	67	90	88	95	89	87	88
Chs2	68	93	94	98	90	83	91
Chs3	67	97	97	97	97	91	97
Kre1	x	x	x	x	x	x	x
Kre9	x	x	x	x	x	x	x
Kre6	x	x	x	x	x	x	x
Skn1	x	x	x	x	x	x	x
Fks1	78	98	97	98	89	95	97
Rho1	73	100	100	83	96	86	100

Dpm1	78	89	92	99	72	90	92
Dpm2	69	100	100	97	94	100	97
Dpm3	61	98	94	66	97	92	94
Pmt1	59	88	91	96	91	91	89
Pmt2	65	88	92	82	97	90	91
Pmt3	56	88	92	82	91	87	91
Pmt4	65	88	98	99	91	91	98
Pmt5	52	88	91	96	91	91	90
Pmt6	57	88	92	82	91	90	91
Mnt1	79	88	91	91	91	88	91
Mnt2	79	88	91	91	91	88	91
Bmt1	x	x	x	x	x	x	x
Bmt2	-	-	-	-	-	-	-
Bmt3	x	x	x	x	x	x	x
Bmt4	x	x	x	x	x	x	x
Bmt5	x	x	x	x	x	x	x
Pra1	x	x	x	x	x	x	x
Hgt1	58	78	73	50	88	63	84
Msb2	48	80	76	91	92	94	77
Hmx1	x	x	x	x	x	x	x
Rbt5	48	91	76	84	93	82	77
Sit1	64	90	86	92	87	67	89
Och1	46	78	91	100	90	81	89
Mnn9	73	98	98	98	98	91	98
Prm1	x	x	x	x	x	x	x
Hyr1	70	94	94	96	94	90	94
Hpw1	-	-	-	-	-	-	-
Als (51)	x	x	x	x	x	x	x
Eap1	x	x	x	x	x	x	x
Iff4	x	x	x	x	x	x	x
Int1	50	x	x	92	94	88	97
Ece1	x	x	x	x	x	x	x

Proteínas involucradas en la virulencia de A. fumigatus con ortólogos en S. schenckii y en las especies ambientales S. insectorum, S. mexicana, S. inflata, S. pallida, S. humicola y S. luriei.

Por otra parte, para el análisis de las proteínas involucradas en la virulencia de *Aspergillus fumigatus* se examinaron 19 genes, de los cuales 17 presentaron ortólogos en *S. schenckii* con un porcentaje de similitud bastante variable, siendo desde 39% hasta 88%; mientras que en el gen RodA no se presentó una similitud significativa con *S. schenckii* y el gen Ace2 no se encontró en la base de datos de NCBI. De los 17 genes ortólogos en *S. schenckii*, 14 fueron los que se utilizaron para realizar el BLAST con las especies ambientales analizadas de *Sporothrix* para evitar duplicaciones de datos. Al momento de realizar el BLAST, se observó que de las proteínas ortólogas en *S. schenckii*, las especies ambientales analizadas mostraron un porcentaje de similitud mayor a 65%.

El mayor porcentaje de similitud entre *A. fumigatus* y *S. schenckii* se presentó en el gen CnaA que corresponde a una subunidad catalítica de calcineurina, presentando un valor de 87%; en cambio entre *S. schenckii* y las especies ambientales, el gen que presentó un mayor porcentaje fue Rhba que es una GTPasa monomérica pequeña de Rheb, en donde los valores obtenidos fueron: *S. insectorum* – 96%, *S. luriei* – 99%, *S. humicola* – 99, *S. inflata* – 97% y *S. pallida* – 97%, en donde la excepción fue *S. mexicana*, ya de igual forma presentaba otro segundo mayor porcentaje de similitud en el gen CnaA, ambos con un valor de 97%.

Los valores obtenidos por la herramienta BLAST para las proteínas comparadas se encuentran desglosados para su consulta en la **Tabla 2**. En los valores obtenidos mediante la herramienta BLAST en la **Tabla 2**, en aquellas proteínas en las que no se encontró una similitud significativa se le colocó “x”, mientras que para los genes que no se encontró en ninguna especie se colocó “-“. De igual forma, en todos los resultados se obtuvo un valor de E.value mayor o igual a cero.

Tabla 2. Proteínas implicadas en los factores de virulencia de *A. fumigatus* y sus posibles ortólogos en *S. schenckii*, *S. insectorum*, *S. mexicana*, *S. inflata*, *S. pallida*, *S. humicola* y *S. luriei*. (NCBI).

Proteína de <i>A.fumigatus</i>	% de similitud con <i>S. schenckii</i>	% similitud <i>S. inflata</i>	% similitud <i>S. pallida</i>	% similitud <i>S. luriei</i>	% similitud <i>S. mexicana</i>	% similitud <i>S. insectorum</i>	% similitud <i>S. humicola</i>
CrgA	53	84	84	84	84	69	85
ChsG	76	94	96	95	97	93	94
Gel2p	68	94	93	97	94	82	93
Ecm33	58	93	91	97	88	87	97
Ace2	-	-	-	-	-	-	-
RodA	x	x	x	x	x	x	x
PksP	59	90	90	93	88	89	90
PpoA	67	93	94	98	93	87	94
Genes involucrados en la virulencia de <i>A. fumigatus</i>	PpoC	67	93	94	98	95	87
	GlIP	39	96	78	87	76	67
	GlIZ	56	85	89	89	89	84
	Rhba	88	97	97	99	97	96
	SidA	64	81	78	83	81	66
	CnaA	87	98	97	92	97	89
	Mvp1	60	98	81	99	84	73
	ZafA	54	79	71	92	69	70
	ZrfA	55	93	93	92	92	84
	ZrfB	55	93	93	91	92	84
	ZrfC	55	95	93	91	92	84

Proteínas involucradas en la virulencia de C. neoformans con ortólogos en S. schenckii y en las especies ambientales S. insectorum, S. mexicana, S. inflata, S. pallida, S. humicola y S. luriei.

Además de las proteínas ya analizadas, también se realizó un análisis bioinformático con respecto a los genes involucrados en la virulencia de *C. neoformans con ortólogos en S. schenckii* y en las especies ambientales. Estudio en el cual el 100% de los genes examinados presentaron ortólogos en *S. schenckii* y el clado ambiental.

Observando la **Tabla 3**, los resultados informan un % de similitud por arriba del 70% en absolutamente todos los genes analizados de esta lista, valor que nos dice sobre la posibilidad de que las secuencias nucleotídicas encontradas en cada especie de *Sporothrix* conserven las mismas funciones, a pesar de no tener identidad en sus aminoácidos. Siendo *S. pallida* la especie con mayor ortología a los genes implicados en la virulencia de *C. neoformans*.

Los valores arrojados por la herramienta BLAST para las proteínas comparadas en esta sección se encuentran desglosados para su consulta en **tabla 3**. En los valores obtenidos mediante la herramienta BLAST en la **Tabla 3** en aquellas proteínas en las que no se encontró una similitud significativa se le colocó “x”, mientras que para los genes que no se encontraron en ninguna especie se colocó “-“. De igual forma, en todos los resultados se obtuvo un valor de E.value mayor o igual a cero.

Tabla 3. Proteínas implicadas en los factores de virulencia de *C. neoformans* y sus posibles ortólogos en *S. schenckii*, *S. insectorum*, *S. mexicana*, *S. inflata*, *S. pallida*, *S. humicola* y *S. luriei*. (NCBI).

Proteína de <i>C. neoformans</i>	% de similitud con <i>S. schenckii</i>	% similitud <i>S. inflata</i>	% similitud <i>S. pallida</i>	% similitud <i>S. luriei</i>	% similitud <i>S. mexicana</i>	% similitud <i>S. insectorum</i>	% similitud <i>S. humicola</i>
Ure1	81	96	96	97	96	84	96
Plb1	50	92	89	93	91	83	89
Sch9	58	98	84	91	98	83	84
Snf1	44	92	89	95	95	81	88
Acs1	-	-	-	-	-	-	-
Pyk1	-	-	-	-	-	-	-
Hva1	x	x	x	x	x	x	x
Cmk1	-	-	-	-	-	-	-
Genes involucrados en la virulencia de <i>C. neoformans</i>							
Hsp90	87	98	98	98	98	97	98
Trx	68	78	83	89	82	75	77
Grx	61	90	90	100	87	85	95
SOD1	78	98	98	100	93	89	95
Prx	73	95	96	98	96	92	88
CAT	56	83	83	94	89	72	83
HSP104	-	-	-	-	-	-	-
HSF1	61	88	76	91	78	71	78
SSA1	88	97	98	97	93	94	98
Hxk1	-	-	-	-	-	-	-
Hxk2	-	-	-	-	-	-	-

Proteínas involucradas en la síntesis de pared celular de *C. albicans* con ortólogos en *S. schenckii* y en las especies ambientales *S. insectorum*, *S. mexicana*, *S. inflata*, *S. pallida*, *S. humicola* y *S. luriei*.

Se analizaron 32 genes que se ven involucrados en la síntesis de pared celular en *C. albicans* de los cuales solo 26 presentaron cierta homología con *S. schenckii*, los valores de similitud fueron variables desde 37% hasta 79%. Cada uno de estos genes fue igualmente comparado con las especies ambientales y todos estos tuvieron similitud con *S. schenckii*.

Los valores obtenidos mediante la herramienta BLAST se muestran en la **Tabla 4** donde se muestra la comparativa entre *C. albicans* y *S. schenckii* y donde se muestra la comparativa entre *S. schenckii* y las especies del clado ambiental. Aquellas en las que no se encontró una similitud significativa se le colocó "x", mientras que para los genes que no se encontró en ninguna especie se colocó "-". De igual forma, en todos los resultados se obtuvo un valor de E.value mayor o igual a cero.

Tabla 4. Proteínas involucradas en la síntesis de pared celular en *C. albicans* y sus posibles ortólogos en *S. schenckii*, *S. insectorum*, *S. mexicana*, *S. inflata*, *S. pallida*, *S. humicola* y *S. luriei*. (NCBI).

Proteína de <i>C. albicans</i>	% de similitud con <i>S. schenckii</i>	% similitud <i>S. inflata</i>	% similitud <i>S. pallida</i>	% similitud <i>S. luriei</i>	% similitud <i>S. mexicana</i>	% similitud <i>S. insectorum</i>	% similitud <i>S. humicola</i>
Genes involucrados en la síntesis de quitina							
Chs1	67	90	88	95	90	91	91
Chs2	68	93	94	98	90	91	91
Chs3	67	97	97	97	89	83	88
Chs8	65	93	94	98	97	92	97
Genes involucrados en la síntesis							
Kre5	57	95	98	95	94	86	94
Cwh41	57	93	97	93	91	79	91

de betaglucanos	Rot2	58	95	97	97	95	87	95
	Cne1	-	-	-	-	-	-	-
	Kre6	x	x	x	x	x	x	x
	Skn1	x	x	x	x	x	x	x
	Kre9	x	x	x	x	x	x	x
	Knh1	x	x	x	x	x	x	x
	Kre1	x	x	x	x	x	x	x
	Rho1	73	98	100	83	89	86	100
	Meq_00226	76	98	97	98	99	95	97
	Gls2	71	98	97	98	99	95	95
Rom2	58	95	92	97	92	91	92	
Genes involucrados en la síntesis de N- y O- glicanos	Och1	46	93	91	100	90	81	89
	Van1	64	86	89	92	88	95	95
	Anp1	76	86	89	92	88	95	95
	Mnn9	73	97	98	98	98	91	98
	Mnn10	64	95	96	92	70	89	75
	Mnn11	52	77	95	94	94	84	96
	Mnn2	50	88	77	89	75	66	77
	Mnn6	-	-	-	-	-	-	-
	Mnn1	37	88	77	89	75	66	77
	Pmt1	59	88	91	96	91	91	89
	Pmt2	65	88	92	82	97	90	91
	Pmt4	63	99	98	99	98	91	98
	Pmt6	57	88	92	82	97	90	91
	Mnt1/Ktr1	78	91	91	91	98	88	91
	Mnt2	79	91	91	91	91	88	91
Mnt3	68	91	91	91	91	88	91	

Discusión de resultados

Proteínas involucradas en la virulencia de C. albicans con ortólogos en S. schenckii y en las especies ambientales S. insectorum, S. mexicana, S. inflata, S. pallida, S. humicola y S. luriei.

Dentro de las proteínas de choque térmico de *C. albicans* están las proteínas provenientes del gen hsp70 y hsp60 mismas que obtuvieron el primer y segundo mayor porcentaje de similitud respecto a *S. schenckii* y el más alto de todos en las especies ambientales (véase Tabla 1). Ambas proteínas son chaperonas reguladas positivamente en respuesta a condiciones de estrés, al hablar de especies ambientales no consideradas potencialmente patógenas, los porcentajes de similitud de estos genes podrían sugerir su participación en la producción de proteínas que ayudan en la promoción del plegamiento y replegamiento de proteínas durante condiciones de choque térmico y estrés proteotóxico.

El gen Fks1 también presentó un gran porcentaje de similitud (véase Tabla 1.) en todas las especies ya mencionadas. Este gen codifica para la enzima 1, 3- β - D glucano-sintasa implicada en la biosíntesis del polímero de beta-1,3-glucano que es un componente principal de la pared celular fúngica (Amado et al. 2018), en el caso de las especies ambientales se puede sugerir que está proteína pertenece a una secuencia conservada que está presente para la síntesis de glucanos en la estructura de su pared celular.

Las proteínas SOD son un factor de virulencia importante en casi todos los hongos patógenos, catalizando la conversión de radicales superóxidos en oxígeno molecular. Al realizar el análisis a la proteína proveniente del gen sod1 dio un valor significativo respecto a *S. schenckii* y a su vez con *S. luriei*, (véase tabla 1) esto puede sugerir que a pesar de que está última no es una especie patógena naturalmente, pertenecen a la misma familia y existe la posibilidad de que algunos de estos genes implicados en virulencia se encuentren también en especies del clado ambiental.

Otro hecho observado durante la búsqueda de genes ortólogos fue que entre *C. albicans*, *S. schenckii* y *S. humicola* fue encontrada en una proteína GTPasa, codificada por el gen *Rho1*, con un valor de 73% de similitud con *S. schenckii* y 100% de similitud respectivamente con *S. humicola*. Es bien conocido que esta proteína GTPasa de tipo Rho regulan el crecimiento polarizado en la levadura mediante la reorganización del citoesqueleto de actina y mediante vías de señalización que controlan la expresión de genes biosintéticos de la pared celular. Sin embargo, el *Rho1* también estimula la actividad de la b-1,3-glucano sintasa que cataliza la biosíntesis del beta-1,3-glucano, el principal componente estructural de la pared celular de la levadura (Martínez-Rocha et. al 2008). Al tener este gen una función tan importante en el crecimiento e integridad celular es por ello que deducimos que hay una alta similitud entre las especies ya mencionadas, pues dicho gen es vital para ellas y sugiere que la composición de la pared celular puede ser de beta-1,3-glucano .

Por otro lado, las proteasas aspartil secretorias, las cuales son proteinasas de tipo pepsina secretadas por patógenos para degradar las proteínas del hospedero, así como están relacionadas con la co-regulación de otros factores de virulencia como la formación de hifas, la adherencia y el cambio fenotípico (Naglik, et al., 2003), son proteínas pertenecientes a la familia de genes sap1-9. Al analizar esta familia de genes se observó que el porcentaje de similitud entre *C. albicans* con *S. schenckii* se obtuvo entre los 48-54% lo cual es un valor bajo y, por tanto, no se puede decir confiablemente que estos genes estén en *S. schenckii* y por consiguiente que se encuentren en las especies del clado ambiental. No obstante, dichas especies ambientales generaron un % de similitud entre *S. schenckii* con cada una de ellas de un valor de entre 87-94% de % de similitud. Así mismo, genes como el Hgc1, el Mp65, Ndt80, Plb1, Plb5, Lip8, Sod 4, Sod 5, Yhb1, Pmt1-6, Hgt1, Msb2, Rbt5, Och1, e Int1 presentaron valores menores al 60% en el porcentaje de similitud, de manera que tampoco se puede decir confiablemente que estos genes estén en *S. schenckii* y por consiguiente que se encuentren en las especies del clado ambiental, las cuales probablemente no necesiten de estos genes al ser en su mayoría genes implicados totalmente en virulencia y patógenidad.

Proteínas involucradas en la virulencia de A. fumigatus con ortólogos en S. schenckii y en las especies ambientales S. insectorum, S. mexicana, S. inflata, S. pallida, S. humicola y S. luriei.

Dentro de los genes analizados para *A. fumigatus* con ortólogos en *S. schenckii* se encuentra CrgA, el cual corresponde a una proteína de procesamiento de RNA ribosomal, ya que tiene la capacidad de unirse al RNA al igual que a los iones de los metales, como lo es el zinc, además de que este funciona como una proteasa dependiente de ATP; en los resultados el porcentaje de similitud de *A. fumigatus* y *S. schenckii* fue inferior al 60% y superior entre los valores de *S. schenckii* y las especie ambientales, por lo que se puede asimilar como hipótesis que el factor de virulencia entre ambos géneros son diferentes al no poder considerarse como genes ortólogos (UniProt). En relación con el zinc, también se pueden mencionar los genes ZrfA, ZrfB y ZrfC, los cuales funcionan como transportadores de este oligoelemento metálico, principalmente en la membrana, y en donde también se relaciona el gen ZafA que funciona como un activador transcripcional de la sensibilidad al zinc, respecto a este grupo de genes, los porcentajes de similitud entre *A. fumigatus* y *S. schenckii* fueron inferiores a 55%, pero al comparar entre *S. schenckii* y las especie ambientales, los valores fueron superiores a 69%, llegando a 95% en el caso de *S. inflata*, lo cual nos indica que estos genes no se pueden considerar como ortólogos para *S. schenckii*, por lo que se puede considerar que las especies ambientales no lleguen a requerir de estos genes (UniProt).

En el grupo de genes de PpoA y PpoC los porcentajes de similitud fueron de 67% entre *A. fumigatus* y *S. schenckii*, por lo que estos genes sí se consideran ortólogos, además estos corresponden a oxigenasas de ácidos grasos similares a la ciclooxigenasa, en el caso de PpoC, este es el responsable de síntesis de varias oxilipinas derivadas de ácidos grasos, y las cuales pueden actuar como factores que modulan el desarrollo de hongos que contribuyen a la resistencia a las defensas del huésped, y en las especies ambientales el porcentaje de similitud fue superior al 87%, lo cual indicaría que se trata de genes que sí son necesarios para estas especies. Por otra parte, en el caso del gen RodA de *A. fumigatus*, no se encontraron similitudes significativas en *S. schenckii*, lo cual indicaría que no requiere de ese regulador secundario del metabolismo. (Bok & Keller, 2004).

Proteínas involucradas en la virulencia de C. neoformans con ortólogos en S. schenckii y en las especies ambientales S. insectorum, S. mexicana, S. inflata, S. pallida, S. humicola y S. luriei.

Por otra parte, *Cryptococcus neoformans*, al igual que *C. albicans* y *A. fumigatus*, tiene una serie de factores de virulencia que, en su conjunto permiten la infección fúngica en el huésped. Distintos genes de este microorganismo han sido buscados en el genoma de diferentes especies de *Sporothrix*, de manera que, los resultados expuestos en este artículo nos ayudan a revelar las similitudes o diferencias en las estrategias de virulencia entre *C. neoformans* y *Sporothrix spp.*

Como es sabido, un factor muy importante en la virulencia de *C. neoformans* es el gen implicado en la producción de ureasa, metaloenzima que hidroliza la urea en dióxido de carbono y amoníaco (Josep M. et al., 2007). En nuestro análisis bioinformático, el gen *ure1* que codifica para dicha enzima se encontró en una similitud por arriba del 80% de las especies estudiadas. Sin embargo, aunque se sabe que la expresión de dicha enzima se da en el género *Sporothrix* (Almeida-Paes R. et al., 2015) no hay estudios que relacionen la función de esta enzima que permite a *C. neoformans* invadir el sistema nervioso central, con respecto al papel que desempeña en *Sporothrix*, por lo que este presunto factor necesita ser estudiado a detalle para este género de hongo.

Por otra parte, el grupo de proteínas antioxidantes conformado por peroxirredoxinas, glutatión peroxidasa, tioredoxinas y superóxido dismutasa, pertenecientes a factores de virulencia de *C. neoformans* también fueron comparadas, encontrándose resultados prometedores en todas las especies aquí estudiadas. Sin embargo, *S. luriei* fue la especie con valores de identidad y similitud mayores para este grupo de proteínas. Estos resultados positivos nos hablan de la posible capacidad de estas especies ambientales para inducir una respuesta ante el estrés oxidativo (Gessler et al., 2007).

Además, en todas las especies del clado ambiental estudiadas, se encontró la proteína perteneciente a la familia las chaperonas (Hsp90) en un valor de similitud significativo (97-98%), lo cual nos podría decir que estas especies ambientales de *Sporothrix* cuentan con la proteína de choque térmico que les brinda el atributo de la termotolerancia (Rodríguez-Caban, et al., 2011) factor de virulencia que también es importante para *C. neoformans* (Chatterjee, S. et al., 2017).

Proteínas involucradas en la síntesis de pared celular de C. albicans con ortólogos en S. schenckii y en las especies ambientales S. insectorum, S. mexicana, S. inflata, S. pallida, S. humicola y S. luriei.

La pared celular dicta la forma cambiante de un hongo, es por ello que el estudio y comprensión de los mecanismos de biosíntesis de la pared nos puede brindar una idea acerca de la patogénesis de éste, algunas de las más estudiadas son las quitin-sintasas. (Chua et al., 1994), la quitina es un homopolisacárido presente en la capa interna de la pared celular de *C. albicans*, dicho homopolisacárido es sintetizado por las quitin-sintasas (Mora-Montes et al., 2011), es por ello que fue importante hacer un análisis de los siguientes genes: *Chs1*, *Chs2*, *Chs3* y *Chs8* en un BLAST de *C. albicans* con *S. schenckii*, arrojando valores muy similares, encontrando cierta similitud entre estas especies, al relacionar *S. schenckii* del clado clínico en el clado ambiental, se realizó un segundo BLAST que arrojó que en todas las especies estudiadas del clado ambiental hay 83%-98% de similitud positiva (Veáse tabla 4), por lo que estamos ante proteínas conservadas, que se encuentran tanto en el clado clínico como en el clado ambiental.

Los genes *Rho1*, *Meq_00226* y *Gls2* son responsables de la síntesis de β -glucano sintasas y para estos genes se encontró similitud con genes en *S. schenckii* obteniendo los siguientes valores de identidad a 73%, 76% y 71%. Al hacer la comparativa con las especies del clado ambiental se encontró que dichos organismos probablemente tienen estos genes, ya que el porcentaje de similitud fue mayor al 80%; estos resultados indican que estos genes posiblemente están presentes tanto en *S. schenckii* como en las especies del clado ambiental; estas sintasas tienen relevancia dado que, como su nombre lo indica, son factores importantes en la biosíntesis de β -1,3-glucanos los cuales son uno de los componentes principales de la pared celular en conjunto con la quitina (Martínez-Rocha et al. 2008).

En la búsqueda de los genes involucrados en la síntesis de *N*- y *O*- glicosilación se encontró que la mayoría tienen su homólogo en *S. schenckii* en el que el valor máximo de similitud positiva fue de 79%, mientras que el valor mínimo fue de 37%. Respecto a los genes *Mnn6*, *Kre6*, *Skn1*, *Kre9*, *Knh1* y *Kre1* no se encontraron similitudes significativas al momento de realizar la comparativa entre organismos, por lo que se puede inferir que dichos genes no tienen homólogos en *S. schenckii* y por lo tanto no lo tendrían las especies del clado ambiental. En su mayoría, los genes involucrados en la síntesis de *N*- y *O*- glicosilación incluyen proteínas manosiltransferasas. La manosa es un sacárido que se encuentra presente en un glicoconjugado que se halla en la pared celular y que actúa como uno de los componentes antigénicos principales en la infección por especies del complejo *S. schenckii*. (López-Romero et al., 2011, García Carnero et al., 2022) La glicosilación

es importante dado que facilita la interacción entre hospedero y el patógeno y, además, proteínas propias del patógeno pueden glicosilar proteínas del hospedero lo cual puede desencadenar la infección (Lin et al., 2020)

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este proyecto permitieron analizar la ortología que puede existir en organismos con genes involucrados en virulencia y síntesis de pared de un conjunto de hongos patógenos conformado por *C. albicans*, *A. fumigatus* y *C. neoformans*, los cuales fueron analizados mediante el uso de la herramienta BLAST en *S. schenckii* y posteriormente con el complejo de especies ambientales de *Sporothrix*, (*S. insectorum*, *S. mexicana*, *S. inflata*, *S. pallida*, *S. humicola* y *S. luriei*). Obtener esta serie de datos puede sugerir que la similitud e identidad entre este complejo de hongos patógenos y este complejo de especies ambientales es muy elevada, en cuanto a genes involucrados con su virulencia y la síntesis de su pared celular, lo que es muy interesante al no ser consideradas estas últimas como potencialmente patógenas, lo que puede sugerir que es una cuestión de secuencias conservadas y ortología entre organismos. Además, de que el análisis de datos permite analizar cuál es la relación presente entre los genes ortólogos y las especies ambientales analizadas, ya que se trata de especies poco estudiadas, y mediante la información obtenida se puede estimar teóricamente cuales son los genes que tienen en común las especies del clado clínico a las especies del clado ambiental. Sin dejar de lado, que estos resultados que se obtuvieron mediante análisis bioinformáticos deben ser corroborados de manera experimental.

Referencias

- Almeida-Paes, R., de Oliveira, L. C., Oliveira, M. M., Gutierrez-Galhardo, M. C., Nosanchuk, J. D., & Zancopé-Oliveira, R. M. (2015). Phenotypic characteristics associated with virulence of clinical isolates from the *Sporothrix* complex. *BioMed research international*, 2015, 212308
- Amado, D. (2018). Construcción de mutantes de *Candida glabrata* resistentes a Caspofungina para el factor de transcripción CRZ1 de la vía Calmodulina/Calcineurina mediante el sistema CRISPR-Cas9. 54(1). 27. <http://hdl.handle.net/10554/39156>.
- Amado, S., & Bonifaz, A. (2011). Clasificación de la esporotricosis. Una propuesta con base en el comportamiento inmunológico. *Dermatología Rev Mex* 2011;55(4):200-208. https://piel-l.org/blog/wp-content/uploads/2011/10/Clasificacion-de-la_esporotricosis.pdf
- Barros, M. B. D. L., de Almeida Paes, R., & Schubach, A. O. (2011). *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. *Clinical microbiology reviews*, 24(4), 633-654. [<https://doi.org/10.1128/CMR.00007-11>]
- Bok, J. W., & Keller, N. P. (2004). LaeA, a regulator of secondary metabolism in *Aspergillus* spp. *Eukaryotic cell*, 3(2), 527–535. <https://doi.org/10.1128/EC.3.2.527-535.2004>
- Chatterjee, S., & Tatu, U. (2017). Heat shock protein 90 localizes to the surface and augments virulence factors of *Cryptococcus neoformans*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 11(8), e0005836. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005836>
- de Carvalho, J., Beale, M., Hagen, F., Fisher, M., Kano, R., Bonifaz, A., Toriello, C., Negroni, R., Rego, R. D. M., Gremião, I., Pereira, S., de Camargo, Z., & Rodrigues, A. (2021). Exploring genetic diversity, population structure, and phylogeography in *Paracoccidioides* species using AFLP markers. *Studies in Mycology*, 100(1), 100129. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100129>
- Ding, C., Festa, R. A., Sun, T.-S. y Wang, Z.-Y., (2014). Iron and copper as virulence modulators in human fungal pathogens. *Molecular Microbiology* [en línea]. 93(1), 10–23. doi: 10.1111/mmi.12653
- García-Carnero, L. C., & Martínez-Álvarez, J. A. (2022). Virulence Factors of *Sporothrix schenckii*. *Journal of Fungi*, 8(3), 318. <https://doi.org/10.3390/jof8030318>
- Gessler NN, Aver'yanov AA, Belozerskaya TA (Reactive oxygen species in regulation of fungal development. *Biochemistry (Mosc)* 72:1091-1109.2007).
- Laura C. García-Carnero, Roberta Salinas-Marín, Nancy E. Lozoya-Pérez, Katarzyna Wrobel, Kazimierz Wrobel, Iván Martínez-Duncker, Gustavo A. Niño-Vega and Héctor M. Mora-Montes (2021) The Heat

- shock protein 60 and Pap1 participate in the *Sporothrix Schenckii*-Host interaction. *Journal of Fungi*. <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/11/960>
- Leila M Lopes-Bezerra, Hector M Mora-Montes, Yu Zhang, Gustavo Nino-Vega, Anderson Messias Rodrigues, Zoilo Pires de Camargo, Sybren de Hoog. (2018) Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging etiological agents. *Medical Mycology*. https://academic.oup.com/mmy/article/56/suppl_1/S126/4925967?login=false
- Lin, B., Qing, X., Liao, J., & Zhuo, K. (2020). Role of Protein Glycosylation in Host-Pathogen Interaction. *Cells*, 9(4), 1022. doi:10.3390/cells9041022
- López-Romero, E., Reyes-Montes, M. del R., Pérez-Torres, A., Ruiz-Baca, E., Villagómez-Castro, J. C., Mora-Montes, H. M., ... Toriello, C. (2011). *Sporothrix schenckii* complex and sporotrichosis, an emerging health problem. *Future Microbiology*, 6(1), 85–102. doi:10.2217/fmb.10.157
- M. D. Téllez, A. Batista-Duharte, D. Portuondo, C. Quinello, R. Bonne-Hernández, I. Z. Carlos (2014) *Sporothrix schenckii* complex biology: environment and fungal pathogenicity. <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.081794-0#r94>
- Madrid I. M., Xavier M. O., Mattei A. S., Fernandes C. G., Guim T. N., Santin R., Schuch L. F. D., Nobre M. O., Araújo Meireles M. C. (2010). Role of melanin in the pathogenesis of cutaneous sporotrichosis. *Microbes Infect* 12:162–165 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1286457909002378?via%3Dihub>
- Makri, N., Paterson, G. K., Gregge, F., Urquhart, C., & Nuttall, T. (2020). First case report of cutaneous sporotrichosis (*Sporothrix* species) in a cat in the UK. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 6(1), 205511692090600. doi:10.1177/2055116920906001
- Marimon, R., Cano, J., Gené, J., *et al.*, 2007. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. *J. Clin. Microbiol.*, 45 (10): 3198–3206. [doi:10.1128/JCM.00808-07] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17687013/>
- Martínez-Rocha, A. L., Roncero, M. I. G., López-Ramírez, A., Mariné, M., Guarro, J., Martínez-Cadena, G. y Di Pietro, A., (2008). Rho1 has distinct functions in morphogenesis, cell wall biosynthesis and virulence of *Fusarium oxysporum*. *Cellular Microbiology* [en línea]. 10(6), 1339–1351. doi: 10.1111/j.1462-5822.2008.01130.x
- Merryman, M., Crigler, J., Seipelt-Thiemann, R., & McClelland, E. (2020). A mutation in *C. neoformans* mitochondrial NADH dehydrogenase results in increased virulence in mice. *Virulence*, 11(1), 1366–1378. <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1831332>
- Mora-Montes H. M., Ponce-Noyola P., Villagómez-Castro J. C., Gow N. A. R., Flores-Carreón A., López-Romero E. (2009). Protein glycosylation in *Candida*. *Future Microbiol* 4:1167–1183 <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fmb.09.88>
- Morgado, D. S., Castro, R., Ribeiro-Alves, M., Corrêa-Moreira, D., Castro-Alves, J., Pereira, S. A., Menezes, R. C., & Oliveira, M. M. E. (2022). Global distribution of animal sporotrichosis: A systematic review of *Sporothrix* sp. identified using molecular tools. *Current Research in Microbial Sciences*, 3, 100140. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100140>
- Naglik, J.R., Challacombe, S.J. & Hube, B. (2003). *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiology Molecular* (67), 400–428. DOI: 10.1128/MMBR.67.3.400-428.2003
- Nesseler, A., Schauerte, N., Geiger, C., Kaerger, K., Walther, G., Kurzai, O., & Eisenberg, T. (2019). *Sporothrix humicola* (Ascomycota: Ophiostomatales) – A soil-borne fungus with pathogenic potential in the eastern quoll (*Dasyurus viverrinus*). *Medical Mycology Case Reports*, 25, 39–44. doi:10.1016/j.mmcr.2019.07.008
- Queiroz-Telles, F., Bonifaz, A., Rossow, J., & Chindamporn, A. (2022). Sporothrix and Sporotrichosis. *Encyclopedia of Infection and Immunity*, 376–396. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818731-9.00046-x>
- Queiroz-Telles, F., Buccheri, R., & Benard, G. (2019). Sporotrichosis in immunocompromised hosts. *Journal of Fungi*, 5(1), 8. [<https://doi.org/10.3390/jof5010008>]
- Rementería, A., López-Molina, N., Ludwig, A., Vivanco, A. B., Bikandi, J., Pontón, J., & Garaizar, J. (2005). Genes y moléculas implicados en la virulencia de *Aspergillus fumigatus*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 22(1), 1–23. doi:10.1016/s1130-1406(05)70001-2

- Rodrigo Almeida-Paes, Luã Cardoso de Oliveira, Manoel Marques Evangelista Oliveira, Maria Clara Gutierrez-Galhardo, Joshua Daniel Nosanchuk, Rosely Maria Zancopé-Oliveira, "Phenotypic Characteristics Associated with Virulence of Clinical Isolates from the *Sporothrix* Complex", *BioMed Research International*, vol. 2015, Article ID 212308, 10 pages, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/212308>
- Rodrigues, A. M., Della Terra, P. P., Gremião, I. D., Pereira, S. A., Orofino-Costa, R., & de Camargo, Z. P. (2020). The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. *Mycopathologia*, 185(5), 813–842. doi:10.1007/s11046-020-00425-0
- Rodrigues, A.M., de Hoog, G.S., de Cássia Pires, D., *et al.*, 2014. Genetic diversity and antifungal susceptibility profiles in causative agents of sporotrichosis. *BMC Infect. Dis.*, 14(1):219. [doi:10.1186/1471-2334-14-219] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24755107/>
- Rodriguez-Caban, J., Gonzalez-Velazquez, W., Perez-Sanchez, L. *et al.* Calcium/calmodulin kinase1 and its relation to thermotolerance and HSP90 in *Sporothrix schenckii*: an RNAi and yeast two-hybrid study. *BMC Microbiol* 11, 162 (2011). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-162>
- Sebastian Iglesias-Osores. Et al,. 2019. Microscopic characteristics of *Sporothrix* sp. *EV EXP MED* 2019;5(2). Abril – Junio. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7032557.pdf>
- Thomson, J., Trott, D. J., Malik, R., Galgut, B., McAllister, M. M., Nimmo, J., ... Kidd, S. E. (2019). An atypical cause of sporotrichosis in a cat. *Medical Mycology Case Reports*, 23, 72–76. doi:10.1016/j.mmcr.2019.01.004
- Torres-Rodríguez, J. M., Alvarado-Ramírez, E., & Gutiérrez-Gallego, R. (2007). Diferencias en la actividad de la enzima ureasa entre *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 25(2008), 27–31. <http://www.reviberoammicol.com/2008-25/027031.pdf>
- Travassos L. R., Lloyd K. O. (1980). *Sporothrix schenckii* and related species of *Ceratocystis*. *Microbiol Rev*44:683–721 <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mr.44.4.683-721.1980>
- UniProt. (s.f.). UniProt. <https://www.uniprot.org/>