



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Ciencias

Diversidad microbiana cultivable e interacciones ecológicas entre bacterias y hongos de ventilas hidrotermales y fondo marino del Sur del Golfo de California, México

TESIS

Que para obtener el título de BIÓLOGA

PRESENTA:

Jesica Abril Hernández Monroy

Tutora:

Dra. Patricia Vélez Aguilar

Co-tutora:

Dra. Laura Espinosa Asuar



Ciudad Universitaria, CD. MX.. Noviembre, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de biblioteca

1.- Datos del alumno (a) Apellido paterno Apellido materno Nombre (s) Teléfono Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias Carrera Número de cuenta	Hernández Monroy Jesica Abril 044 55 53 32 12 61 Biología 414009334
2.- Datos de tutora Grado Nombre (s) Apellido paterno Apellido materno	Dra. Patricia Vélez Aguilar
3.- Datos del sinodal 1 Grado Nombre Apellido paterno Apellido materno	Dra. Valeria Souza Saldívar
4.- Datos del sinodal 2 Grado Nombre Apellido paterno Apellido materno	Dr. Luis A. Soto González
5.- Datos del sinodal 3 Grado Nombre Apellido paterno Apellido materno	Dra. María del Carmen Auxilio González Villaseñor
6.- Datos del sinodal 4 Grado Nombre Apellido paterno Apellido materno	Dra. Laura Espinosa Asuar
7.- Datos del trabajo escrito Título Número de páginas Año	Diversidad microbiana cultivable e interacciones ecológicas entre bacterias y hongos de ventilas hidrotermales y fondo marino del sur del Golfo de California, México 108 pp 2019

Esta investigación se realizó en los laboratorios C-121 del Instituto de Biología y “Evolución Molecular y Experimental” del Instituto de Ecología en la Universidad Nacional Autónoma de México, y formó parte del proyecto “Patrones de diversidad de los hongos microscópicos que habitan en ecosistemas amenazados de México” que se realizó con financiamiento del Instituto de Biología, así como con el apoyo del Instituto de Limnología y Ciencias del Mar y del Instituto de Ecología, UNAM.

DEDICATORIA

Esta tesis no hubiera sido posible sin el apoyo de un pequeño grupo de personas a quienes quiero agradecer y dedicar este trabajo.

A mis papás por cuidarme y educarme, sé que han hecho un enorme esfuerzo y les agradezco mucho. Por enseñarme a ser buena persona.

A mi papá por enseñarme valores, a razonar y a no darme por vencida cuando las cosas son complicadas.

A mí mamá por darme el ejemplo de que siempre hay que trabajar duro y ser perseverante para alcanzar una meta.

A Eny por estar junto a mí, cuidarme, alimentarme y por ser la hermana grande cuando es necesario. Te quiero.

A mis abuelitos Tere y Carlos que siempre han estado protegiéndome y dándome amor en todo momento.

A mi abuelita Lulú y a mis tíos Anne Laure y Alex que siempre me han apoyado a lo largo de todos estos años.

A Carlos por ser mi compañero de aventuras y por siempre sacarme una sonrisa.

A mis profesores por impulsarme a crecer académicamente.

A Paty y Lau por creer en mí, sin su ayuda esto no sería posible.

A mis amigos que me acompañaron en este trayecto y escucharon mis múltiples boberías.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por formarme académicamente y como individuo.

A los Institutos de Biología, Ecología y Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM por brindarme las herramientas necesarias durante este trayecto.

A la Dra. Patricia Vélez por brindarme experiencia, conocimiento y motivación durante todo este trayecto, por abrirme las puertas de su laboratorio y ayudarme a ser mejor persona e investigadora, además de todas las oportunidades que me ha dado y me sigue dando; y por supuesto a enseñarme sobre el maravilloso mundo de los hongos.

A la Dra. Laura Espinosa por acompañarme desde el principio de este viaje académico y orientarme brindándome sus consejos, enseñanzas, apoyo y amistad en momentos difíciles, además de enseñarme que la ciencia siempre puede ser divertida y multidisciplinaria, y que uno debe de tener la mente abierta y ser positivo ante las adversidades.

A la Dra. Valeria Souza y al Dr. Luis Eguiarte por abrirme las puertas de su laboratorio en donde me inicié en la investigación.

Al Dr. Luis A. Soto González por donar amablemente las muestras utilizadas para realizar la presente investigación, además de sus enseñanzas y apoyo en la misma.

A la Dra. Diana Salcedo por su apoyo y recomendaciones durante este proyecto.

A la Dra. María Del Carmen Auxilio González Villaseñor por ayudarme en este trabajo y permitirme entrar en la comunidad de estudio de los micromicetes.

A los miembros de mi jurado por el apoyo a lo largo de este trabajo y por su apoyo para que este trabajo concluya con éxito.

Al Dr. Jaime Gasca por su asesoría, conocimiento y ayuda.

A la Dra. Erika Aguirre por su asesoría técnica a lo largo de este proyecto.

A las Dras. Laura Márquez y Nelly López y el LaNaBio por su apoyo técnico en la secuenciación de las muestras.

A mis compañeros y amigos del laboratorio que siempre me apoyaron y me dieron ánimo para seguir adelante.

A mis amigos los cuales han estado ahí desde el principio de este viaje académico.

A doña Chivis que siempre me estuvo ayudando y cuidando en el lab.

«El cosmos es todo lo que es, todo lo que fue y todo lo que alguna vez será. Nuestras más ligeras contemplaciones del cosmos nos hacen estremecer: sentimos como una suerte de cosquilleo nos llena los nervios, una voz muda, una ligera sensación... como si de un recuerdo lejano se tratase o como si cayéramos desde una gran altura. Sabemos que nos aproximamos al más grande de los misterios».

- Carl Sagan

«En algún lugar algo increíble está esperando ser descubierto...

- Carl Sagan

RESUMEN

En el fondo marino, a lo largo de las Dorsales Medio Oceánicas, existe uno de los ecosistemas más extremos y diversos del planeta: los sistemas hidrotermales. Estos ecosistemas se originan en zonas de formación de suelo oceánico, donde se genera un flujo continuo de agua caliente que puede alcanzar temperaturas de más de 400°C, debido a que el agua percola y entra en contacto con el magma de la corteza terrestre, o porque reacciona exotérmicamente con olivinos y piroxenos. Los organismos que habitan en los sistemas hidrotermales se han adaptado conformando diferentes nichos, en los cuales las interacciones ecológicas son fundamentales para la subsistencia de la vida. Con el objetivo de entender su ecología, se aislaron microorganismos (hongos y bacterias) provenientes de muestras de sedimento colectadas en ventilas hidrotermales, infiltraciones y fondo marino al Sur del Golfo de California. Posteriormente, se realizó su identificación molecular a partir de la región ITS1-5.8S-ITS4 para hongos y el gen 16S ARNr para bacterias. Además, se realizaron bioensayos de interacción entre representantes de ambos reinos con un selecto grupo de taxa, a partir de los cuales se generó una novedosa propuesta para evaluar interacciones *in vitro*, partiendo de un conjunto de índices de crecimiento. Se aisló un total de 25 hongos, entre los cuales el género *Aspergillus* presentó mayor abundancia; mientras que en bacterias se obtuvieron alrededor de 300 aislados, identificándose 50 taxa, siendo *Bacillus* el género más abundante. En cuanto a las interacciones, la competencia y el antagonismo fueron las interacciones predominantes en los bioensayos, lo cual se esperaba teniendo en cuenta teorías ecológicas como la Reina Roja o la del Mercado Microbiano.

ABSTRACT

On the depth of the ocean, along the Mid-Ocean Ridge, one of the most extreme and diverse ecosystems on the planet occurs: the hydrothermal systems. These systems distribute around the oceanic spreading zones all around the planet. In these sites, the currents generate a continuous flow of hot water that may reach temperatures above 400°C as a result of: 1) water percolating and encountering the Earth crust's magma, or 2) the exothermic reaction with olivines and pyroxenes. Therefore, the organisms that inhabit in these systems are adapted, and have established in different ecological niches where interactions are fundamental for life. In order to understand their ecology, microorganisms (fungi and bacteria) were isolated from sediment samples collected in hydrothermal vents, infiltrations, and seafloor at the South of the Gulf of California. Subsequently, molecular identification was made by analyzing the ITS1-5.8S-ITS4 region for fungi, and 16S rRNA for bacteria. In addition, bioassays of interactions were carried out with a select group of taxa between representatives of both kingdoms. Herein a novel proposal was generated to evaluate *in vitro* interactions, using a set of growth indexes. A total of 25 fungi were isolated, among which, the genus *Aspergillus* was the most abundant; while in bacteria around 300 isolates were obtained, identifying 50 taxa, being *Bacillus* the most abundant genus. In terms of interactions, competition and antagonism were the predominant interactions in the bioassays, which was expected considering ecological theories such as the Red Queen or the Microbial Market Theory.

Tabla de contenido

DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS	IV
REFLEXIÓN	V
RESUMEN	VI
ABSTRACT	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 FONDO MARINO Y MAR PROFUNDO	1
1.1.1 ZONAS MÍNIMAS DE OXÍGENO	2
1.1.2 SISTEMAS HIDROTERMALES	4
1.3 MICROORGANISMOS DE ZONAS MÍNIMAS DE OXÍGENO Y VENTILAS	8
1.4 INTERACCIONES	10
1.4.1 IMPORTANCIA DE INTERACCIONES EN ECOSISTEMAS DE MAR PROFUNDO	13
1.5 INTERACCIONES ECOLÓGICAS MICROBIANAS	15
2. ANTECEDENTES	16
2.1 EXPLORACIÓN DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA EN ZONAS MÍNIMAS DE OXÍGENO	16
2.2 EXPLORACIÓN DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA EN SISTEMAS HIDROTERMALES	16
2.2.1 SISTEMA HIDROTERMALES DE GUAYMAS	18
3. HIPÓTESIS	20
4. OBJETIVOS	20
4.1 OBJETIVO GENERAL	20
4.2 OBJETIVOS PARTICULARES	21
5. JUSTIFICACIÓN	21
6. MATERIALES Y MÉTODOS	22
6.1 SITIO DE ESTUDIO Y MUESTREO	22
6.1.1 ZONA MÍNIMA DE OXÍGENO	23

6.1.2 SISTEMA HIDROTHERMAL DEL SUR DEL GOLFO DE CALIFORNIA	23
6.2 PROCESAMIENTO <i>EX SITU</i> Y AISLAMIENTO	26
6.4 PRESERVACIÓN <i>EX SITU</i> EN UNA COLECCIÓN DE CULTIVOS	27
6.5 IDENTIFICACIÓN	27
6.5.1 EXTRACCIÓN DE ADN Y AMPLIFICACIÓN	27
6.6 ANÁLISIS BIOINFORMÁTICOS	29
6.7 INTERACCIONES	30
6.7.1 BIOENSAYOS DE INTERACCIONES	30
6.8 ÍNDICES DE INTERACCIÓN	32
6.8.1 MEDICIÓN DE CRECIMIENTO	32
6.8.2 SELECCIÓN DE ÍNDICES DE INTERACCIÓN	33
7. RESULTADOS	35
7.1 DIVERSIDAD MICROBIANA CULTIVABLE	35
7.1.1 IDENTIFICACIÓN DE ORGANISMOS	35
7.1.2 ORGANISMOS ENCONTRADOS POR SITIO DE ESTUDIO	39
7.2. BIOENSAYOS DE INTERACCIÓN	45
7.2.1 ORGANISMOS SELECTOS	45
7.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	55
7.3.1 ÍNDICES DE INTERACCIÓN	55
7.3.2 RESULTADO DE LAS INTERACCIONES PAREADAS	59
7.3.3 CAMBIOS EN ESCALA TEMPORAL	61
7.3.4 INTERACCIONES A NIVEL LOCAL	63
8. DISCUSIÓN	63
8.1 DIVERSIDAD MICROBIANA	63
8.2 INTERACCIONES MICROBIANAS	68
9. CONCLUSIONES	74
10. LITERATURA CITADA	76
11. APÉNDICES	87

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Fondo marino y mar profundo

El fondo marino cubre un total de 362 millones de km² de la superficie terrestre (Lara-Lara *et al.*, 2008). Su topología incluye relieves tales como montañas, valles, mesetas, acantilados y enormes planicies. Por mucho tiempo se creyó que era un lugar inhóspito y desolado, en el que ninguna forma de vida podría subsistir. Sin embargo, actualmente numerosos estudios comprueban que no solo existe vida en el fondo oceánico, sino que es abundante y se encuentra conformada por una compleja red microbiana con metabolismos únicos que permiten su permanencia en estos sitios (Grassle *et al.*, 1992; Kato *et al.*, 1996; Schippers *et al.*, 2005; Teske, 2005).

El fondo marino no sólo posee geomorfologías diferentes, sino también una serie de ecosistemas únicos con características heterogéneas asociadas a diversos factores como el sitio geográfico y la profundidad (Horikoshi *et al.*, 1998; Schippers *et al.*, 2005; Teske, 2005). Algunas de estas características son: altas presiones hidrostáticas, falta de luz solar, alta concentración de sales, altos y bajos niveles de pH, temperatura que varía desde 1°C hasta los 400°C, así como diferentes concentraciones de minerales, hidrocarburos o ácidos. No obstante, los organismos que viven en estos ambientes han desarrollado diversas adaptaciones para poder sobrevivir. Por ejemplo, hay microorganismos que tienen la capacidad de formar esporas para estar en latencia en condiciones adversas, otros poseen operones especiales que regulan la presión o proteínas de membrana capaces de soportar temperaturas extremas (Horikoshi *et al.*, 1998; Kato *et al.*, 1995).

México cuenta con 5 120 679 km² de territorio nacional, de los cuales 2 946 000 km² corresponden a la zona oceánica y 1 964 375 km² son de superficie continental (Lara-Lara *et al.*, 2008). Teniendo esto en cuenta, México es considerado el décimo segundo país a nivel mundial en riqueza de litorales y extensión marítima, lo

cual a su vez corresponde a una gran proporción de fondo marino y, por lo tanto, de ecosistemas de mar profundo.

Los ecosistemas de mar profundo mexicanos se caracterizan por una productividad biológica baja, con corrientes marinas de alrededor de < 0.25 nudos, y una diversidad biológica con una alta tasa de endemismos (Cartee, 2014). En México, estos ecosistemas se encuentran poco estudiados y se pueden distribuir en taludes continentales, trincheras, dorsales, zonas de subducción y expansión oceánica, montes marinos, sistemas hidrotermales, infiltraciones de metano, cañones submarinos y planicies de fondos lodosos (Lara-Lara *et al.*, 2008).

1.1.1 Zonas mínimas de oxígeno

Las zonas mínimas de oxígeno son sitios dentro de la columna de agua que presentan una concentración de oxígeno disuelto menor a $< 20 \mu\text{mol}$ de O_2 por kg de agua, siendo $> 90 \mu\text{mol}$ O_2 por kg de agua una concentración promedio (Wright *et al.*, 2012). Estas zonas suelen estar presentes al oeste de los márgenes continentales, siendo resultado de diferentes procesos tanto bióticos como abióticos. En la columna de agua los organismos fotosintéticos liberan oxígeno, el cual queda disponible dentro de las primeras capas de la columna y es utilizado por organismos aerobios. Sin embargo, en algunas ocasiones la tasa de liberación de O_2 es menor a la tasa de consumo, esto produce un déficit en la concentración de oxígeno disponible, haciendo del área en la que se llevó a cabo este intercambio, una zona mínima de oxígeno (Hendrickx *et al.*, 2014; Wright *et al.*, 2012; Teske, 2005).

Uno de los principales factores que contribuye a este tipo de fenómenos es la presencia de zonas con una ventilación pobre de oxígeno; esto como resultado de corrientes que llevan agua con oxígeno disponible tanto para el fondo marino como para aguas superficiales, pero no así hacia la parte media de la columna de agua, la cual queda limitada al oxígeno disponible de zonas aledañas. Cabe mencionar que esta tasa de recambio de

oxígeno en la zona media no es favorable para los organismos aerobios que pueden habitar en esta zona (Wright *et al.*, 2012).

Otros factores que influyen en la formación de zonas mínimas de oxígeno son: la geomorfología del sitio, el sedimento subyacente y la eutrofización de los océanos. Esta última en los últimos años ha ocasionado que las zonas mínimas de oxígeno se expandan a regiones que antes poseían una buena concentración de oxígeno, causando graves problemas ecológicos por la pérdida o migración de las especies aerobias que habitaban en estos sitios, siendo los organismos tolerantes a la falta de oxígeno y los anaerobios estrictos los que presenten gran abundancia en estos sitios (Cartee, 2014; Hendrickx *et al.*, 2014; Wright *et al.*, 2012).

El Golfo de México comprende una de las zonas mínimas de oxígeno temporales más grandes en el planeta, presentando condiciones de hipoxia por encima de las profundidades en las que se presentan usualmente. Por este motivo, gran cantidad de organismos aerobios quedan excluidos por completo de esta área, generando "zonas muertas" en las que solo aquellos organismos capaces de vivir en condiciones de bajas concentraciones de oxígeno o sin oxígeno sobreviven (Cartee, 2014). Esta zona mínima de oxígeno es el resultado de un proceso principalmente antropogénico: agua enriquecida en nutrientes (altas concentraciones de compuestos nitrogenados y fosfatados derivados de la agricultura) proveniente de los ríos Mississippi y Atchafalaya, desemboca en las aguas cálidas del Golfo. Esta zona de hipoxia se ha estudiado constantemente puesto que su carácter temporal ha ido desapareciendo para volverse permanente. Además, el área que ocupa ha ido en aumento, lo que trae consigo repercusiones catastróficas en los ecosistemas marinos del Golfo de México (Cartee, 2014, Lara-Lara *et al.*, 2008).

Por otra parte, en el Golfo de California se encuentra una zona mínima de oxígeno bien establecida que se distribuye principalmente a lo largo del margen continental, entre los 500 y 1000 metros de profundidad (Dean, 2006), presentando un mayor espesor en el lado oeste del Golfo, mientras que el lado este y el centro

presentan variaciones de espesor dependientes de la latitud. Además, en la parte norte a partir de las islas Tiburón, Ángel de la Guardia y San Lorenzo, la hipoxia disminuye hasta desaparecer por la presencia de aguas más someras y un mejor flujo de oxígeno disuelto. Esta zona mínima de oxígeno, aunque presenta un origen antropogénico su origen también se debe a las características geomorfológicas del Golfo (Hendrix *et al.*, 2014).

1.1.2 Sistemas hidrotermales

En febrero de 1977 durante la navegación del buque oceanográfico *Knorr* del *Woods Hole Oceanographic Institution* se descubrieron las ventilas hidrotermales en el fondo del océano Pacífico, en la Falla de las Galápagos, (Ballard, 1977). La expedición se llevó a cabo como resultado del registro de anomalías térmicas en el fondo oceánico, lo cual indicaba la presencia de un flujo hidrotermal. Sin embargo, se desconocía su origen, por lo cual alrededor de 30 investigadores llegaron al sitio a realizar una extensa búsqueda de fluctuaciones en la temperatura. Cabe recalcar que en ese momento no se contaba con el equipo que actualmente se ocupa para expediciones en el fondo marino, por lo que los investigadores utilizaron una cámara que tomaba una fotografía cada diez segundos, atendiendo en todo momento los cambios el relieve oceánico y en la temperatura. En total se obtuvieron aproximadamente 2160 fotografías documentando el fondo marino, entre las cuales se pudo detectar un sitio con fauna rodeado de campos de lava, por lo que se procedió a bajar con la ayuda de un submarino tripulado. Como resultado, se descubrió un nuevo ecosistema en el fondo marino, que se conoce como sistemas hidrotermales o ventilas hidrotermales (Ballard, 1977; Lubofsky, 2018).

Los sistemas hidrotermales se forman en las Dorsales Medio Oceánicas, y son resultado de un proceso de tectónica, originada por la expansión del fondo oceánico. Se conforman por diferentes tipos de procesos geológicos químico-magmáticos, entre los cuales se pueden encontrar las ventilas hidrotermales, infiltraciones u otros tipos de flujos difusos de agua a alta temperatura. Estos últimos, cabe mencionar, no se detectan tan fácilmente como el flujo térmico que produce una ventila. Se les conoce como campos de ventilas a los sitios

en los que se presenta un cúmulo de procesos hidrotermales en el fondo oceánico. Estos campos tienden a cubrir una superficie de entre decenas y cientos de metros, en donde se distribuyen ventilas o infiltraciones rodeadas del fondo oceánico, simulando una pequeña isla (Brazelton *et al.*, 2017; Martin *et al.*, 2008; Van Dover *et al.*, 1995). Los campos de ventilas se encuentran ordenados a lo largo de las Dorsales, presentando una distribución global. Actualmente se conocen alrededor de 285 campos de ventilas alrededor del mundo (Goffredi *et al.*, 2017).

Al estar sobre zonas de alta tectónica, la fuente de energía térmica de estas ventilas proviene del magma basáltico, puesto que cuando el agua percola por el sustrato poroso de estos sitios y llega hasta donde se encuentra el magma de la corteza, provoca que el agua entre en ebullición y se genere un flujo hidrotermal. Como resultado, el agua marina cambia de composición y arrastra consigo una diversa cantidad de compuestos y metales, que transitan por chimeneas, fisuras o montículos en el fondo marino por los cuales el agua sube a presión, y sale con temperaturas que van desde los 90°C a los 400 °C. De forma general, los metales de transición disueltos encontrados en ventilas pueden ser el Fe(II) y el Mn(II), además de compuestos como el CO₂ magmático (4–215 mmol por kg), H₂S (3–110 mmol por kg), así como H₂ (0.1–50 mmol por kg) y CH₄ (0.05–4.5 mmol por kg). Este último, se puede encontrar como resultado de procesos abiogénicos o biogénicos (como producto metabólico de los organismos que viven en las ventilas). El pH de este tipo de ventilas es ácido, variando entre un pH de 2 a 3 dependiendo del sitio, pues la composición tanto de metales como de otros compuestos se encuentra determinada por la zona geográfica (Brazelton *et al.*, 2017; Grassle *et al.*, 1987; Hessler *et al.*, 1995; Jannasch *et al.*, 1985; Martin *et al.*, 2008; Van Dover *et al.*, 1995).

Las ventilas presentan características químicas y físicas particulares, dependiendo de los compuestos y minerales presentes en la zona. Por ejemplo, ventilas con una alta concentración de sulfuro de hierro, son conocidas como *Black Smokers*, pues generan un flujo de agua de coloración negro grisáceo debido a la acumulación de minerales y compuestos que lleva el agua a su paso hasta salir por la chimenea. Este tipo de ventilas presenta los flujos de agua con las temperaturas más altas y ricas en sulfuros, así como las chimeneas

con estructuras más altas. Por otra parte, las ventilas cuya composición es principalmente de bario, calcio y silicio presentan flujos de agua con una coloración blanca o grisácea, por lo tanto, son conocidas como *White Smokers*. Las chimeneas de las ventilas varían dependiendo de la composición de minerales del sitio, pues éstos se depositan a lo largo del tiempo hasta crear las estructuras, siendo todas únicas (Brazelton *et al.*, 2017; Kelley *et al.*, 2005).

En la dorsal media del Atlántico se han investigado numerosos sitios hidrotermales. Sin embargo, existe uno en particular que llamó la atención de la comunidad científica por la complejidad física del sistema. El TAG (Por sus siglas en inglés: Trans-Atlantic Geotraverse) es un segmento de alrededor de 40 km en el dorsal descubierto en 1985 que presenta una geomorfología concéntrica particular, rodeada de pequeñas fallas transformantes. En este sitio se encuentran microambientes conformados por emanaciones difusas, y también chimeneas hidrotermales con variaciones de temperatura bajas y altas presentes en todo el sistema; existen *Black Smokers* con fluidos enriquecidos en cobre, así como *White Smokers* que tienen fluidos hidrotermales ricos en zinc y pobres en sulfuros, siendo excelentes microhábitats para invertebrados y/o para microorganismos (Van Dover *et al.*, 1995).

Aunque los sistemas hidrotermales se originan como resultado de un proceso de tectónica a partir de la expansión del fondo oceánico, no todas las ventilas hidrotermales se encuentran asociadas a un componente magmático. Algunas de ellas obtienen la energía térmica de un proceso químico llamado serpentización, el cual se lleva a cabo al momento de que el agua percola entre los sedimentos oceánicos y entra en contacto con rocas ultramáficas como la peridotita y las ofiolitas, las cuales reaccionan de forma exotérmica para convertirse en serpentinitas. Estos sistemas se suelen encontrar, a diferencia de los sistemas propulsados por magma, en zonas de expansión de suelo oceánico lentas con gran cantidad de fracturas y fallas, que permiten el acceso del agua del mar a la parte superior del manto, en donde se encuentran las rocas ultramáficas que permiten que la serpentización se lleve a cabo (Kelley *et al.*, 2005; Lowell *et al.*, 2002; Schrenk *et al.*, 2013).

Este tipo de sistemas hidrotermales se caracteriza por tener un pH alto, con concentraciones altas de hidrogeno (H₂), metano (CH₄), calcio (Ca), magnesio (Mn) y algunos otros metales. En sitios con abundantes rocas ultramáficas, el proceso de serpentización se puede llevar a cabo a pocos centímetros del fondo oceánico (alcanzando altas temperaturas), o en la parte superior del manto en donde el agua atraviesa sedimentos marinos hasta salir (enriqueciéndose a su paso de diversos compuestos). Algunos de estos flujos depositan carbonato de calcio e hidróxido de magnesio a lo largo de los años, generando chimeneas capaces de alcanzar alturas de más de 10m de alto. La temperatura en estos sistemas puede llegar a ser desde los 90°C hasta los 300°C, en donde los flujos difusos presentan temperaturas no tan altas en comparación con las chimeneas (Allen *et al.*, 2004; Früh-Green *et al.*, 2003; Kelley *et al.*, 2005; Schwarzenbach *et al.*, 2013).

En el año 2000, *The Lost City* fue el primer sistema hidrotermal originado por la serpentización descubierto (Kelley *et al.*, 2005). Éste se encuentra a 15 km de distancia de la Dorsal Medio Oceánica del Atlántico y a una profundidad de entre los 750 y 900 m. Su descubrimiento asombró a muchos investigadores, puesto que se encontraba lejos de la zona magmática. Sin embargo, posteriormente se logró comprender su origen y características, llamando la atención cómo este sistema divergía de los sistemas sostenidos por el magma. *The Lost City* es un sistema hidrotermal con aproximadamente 30 000 años de antigüedad, que se encuentra en una zona de lenta expansión oceánica, por lo que la reacción de serpentización se da paulatinamente. Presenta precipitados blancos con depósitos hidrotermales, y estructuras desde delicadas y cristalinas, hasta grandes conglomerados altamente porosos compuestos principalmente de aragonita y brucita. El sistema se encuentra dominado por una ventila activa de carbonato llamada *Poseidon*, de donde emerge fluido por una intrincada red de pequeños canales de alrededor de 1 cm de diametro. Este sistema no es la excepción, y el principal metabolismo es la quimioautotofía, en el que se pueden presentar microorganismos procariontes de los *phyla* Cloroflexi, Firmicutes, Gamma y Epsilon proteobacteria (Allen *et al.*, 2004; Früh-Green *et al.*, 2003; Kelley *et al.*, 2005).

1.1.2.1 Sistemas hidrotermales de fondo marino en México

En México se han descubierto hasta la fecha tres sitios con sistemas hidrotermales de mar profundo, siendo el de Guaymas el más estudiado (Lara-Lara *et al.*, 2008; Goffredi *et al.*, 2017). El sistema hidrotermal de Guaymas se encuentra ubicado en el Golfo de California en la cuenca con el mismo nombre, rodeado de zonas mínimas de oxígeno. Esta cuenca posee una rápida tasa de sedimentación, de uno a dos mm al año, con un gran contenido de diatomeas, debido a una alta producción primaria en la superficie de origen antropogénico; además, en el sedimento se presentan bajas concentraciones de metales y flujos difusos que pueden llegar a temperaturas de 200°C, con un alto contenido de hidrocarburos, ácidos orgánicos de cadena corta, amoníaco y metano (Jørgensen *et al.*, 1990; Teske *et al.*, 2002).

El alto contenido de sedimentos en este parche hidrotermal es inusual comparado con otros sistemas, debido a que el agua en los flujos difusos debe de atravesar todo este contenido rico en compuestos orgánicos, cambiando considerablemente la composición del fluido, y esto a su vez afecta la composición de los diferentes grupos vivos que habitan en el sitio (Teske *et al.*, 2002). La temperatura del agua lejos de los flujos hidrotermales es de 2.7°C y presenta una baja concentración de oxígeno disuelto 0.6-0.7 ml O₂l⁻¹. Además, existen estructuras de chimeneas que por la composición química del flujo hidrotermal es catalogada como *Black Smokers* (Jørgensen *et al.*, 1990).

1.3 Microorganismos de zonas mínimas de oxígeno y ventilas

Estas zonas albergan una comunidad bacteriana única y característica asociada a la concentración de oxígeno disuelto disponible. Es decir, menor concentración de oxígeno disuelto, predominan organismos anaerobios, los cuales contribuyen a una gran cantidad de ciclos biogeoquímicos en el océano entre los que se encuentran el ciclo del carbono (C), nitrógeno (N) y sulfuro (S). Se han descrito microorganismos en estas zonas capaces de metabolizar nitrógeno orgánico proveniente de urea y cianato como base para el metabolismo anammox (por sus siglas en inglés, oxidación anaerobia del ion amonio). También, se han

reportado algunos organismos aerobios facultativos del género *Sagittula* los cuales se especula, participan durante la fijación del nitrógeno en estos ecosistemas (Bertagnolli *et al.*, 2018).

En cuanto a hongos, normalmente se han descrito organismos aerobios heterótrofos saprobios (principalmente degradadores de la materia orgánica), los cuales fungen diferentes e importantes roles ecológicos. No obstante, en el fondo marino bajo condiciones de hipoxia, se ha descrito que pueden utilizar nitratos y o nitritos como alternativas al uso del oxígeno como adaptación metabólica, siendo así piezas clave para procesos de desnitrificación en el fondo marino (*e.g.* algunos representantes de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*). En zonas de hipoxia, también se han descrito géneros anaerobios estrictos pertenecientes al Phylum *Chitridiomycota* (Stief *et al.*, 2014).

Desde el descubrimiento de las ventilas hidrotermales, parte de la comunidad científica ha intentado entender cómo es que funciona este ecosistema, sus características físicas, químicas y geológicas, así como la biología de los seres vivos que habitan en él. En este ecosistema, la base de las cadenas tróficas depende de los microorganismos. Sin embargo, a diferencia de los ambientes terrestres o de mar somero, el metabolismo principal de la producción primaria no es la fotosíntesis, sino un conjunto de metabolismos quimioautótrofos. Debido a sus metabolismos únicos y su capacidad de sobrevivir a altas temperaturas, presiones hidrostáticas, falta de oxígeno y altas concentraciones de metano, sulfuros, entre otros, la comunidad bacteriana ha llamado la atención de la comunidad científica a nivel mundial (Ding *et al.*, 2017; Hessler *et al.*, 1995; Martin *et al.*, 2008).

Una parte fundamental de las comunidades bacterianas en ventilas hidrotermales son las bacterias sulfato reductoras (Jørgensen *et al.*, 1990), bacterias formadoras de tapetes microbianos a través de filamentos de azufre elemental (Taylor *et al.*, 1999) o bacterias metanógenas termofílicas extremas. Todas ellas probablemente fungen un papel importante dentro de las redes tróficas de las ventilas y en los ciclos del

carbono del océano (Jones *et al.*, 1983; Dowell *et al.*, 2016; Wellsbury *et al.*, 2000). Así mismo, se han realizado estudios cultivo-independientes sobre bacterias y arqueas utilizando el gen 16S ARNr, para analizar las comunidades microbianas de sedimentos de ventilas alrededor del mundo (Burgaud *et al.*, 2009; Ding *et al.*, 2017; Kelley *et al.*, 2005; Moyer *et al.*, 1995; Sun *et al.*, 2015; Wellsbury *et al.*, 2000), y así obtener una mejor descripción de la comunidad bacteriana que habita en este sistema oligotrófico.

Cabe mencionar que son muy pocos los estudios que se han realizado sobre la microbiota nativa de ventilas hidrotermales. Se tiene información sobre micromicetes levaduriformes asociados a fauna hidrotermal (Burgaud *et al.*, 2010), trabajo en el que se describe el aislamiento y la caracterización de metabolitos secundarios en un aislado de *Penicillium* originario de Taiwán, así como la publicación sobre la diversidad cultivable tanto de hongos asociados a fauna como en sedimentos de algunas ventilas hidrotermales en el Atlántico y el suroeste del Pacífico (Burgaud *et al.*, 2009). Recientemente, se sumó un estudio realizado en la dorsal Arábigo-Índica, en el cual se utilizaron métodos cultivo dependientes para la identificación fúngica, encontrando 14 taxa, siendo *Ascomycota* el más abundante (Xu *et al.*, 2018).

1.4 Interacciones

En la naturaleza, los organismos no se encuentran aislados. Más bien conviven tanto con organismos de su misma especie como con otras especies, conformando comunidades dinámicas en donde se crea una compleja red de interacciones ecológicas entre los individuos, y los microorganismos no quedan exentos de participar (Faust *et al.*, 2012). Las comunidades microbianas son parte esencial de todo ecosistema, al ser productores primarios, degradadores o piezas fundamentales en los ciclos biogeoquímicos. Esto los lleva a convivir estrechamente con otros microorganismos. En la teoría ecológica las interacciones se han evaluado a partir de modelos como *Lotka Volterra*, y se analiza la respuesta depredador-presa de dos organismos respecto a su adecuación, evaluada con tasas tanto de natalidad, mortalidad y de reproducción. Este tipo de modelos solo se resolvieron para macroorganismos (Faust *et al.*, 2012; Friedman *et al.*, 2017).

En los últimos años, diversos grupos de investigación han extrapolado estos modelos (*Lotka Volterra*) para el estudio de las interacciones microbianas (Faust *et al.*, 2012). Sin embargo, su uso queda estrictamente resuelto para organismos de los cuales se conoce su biología, como es el caso de microorganismos modelo o de patógenos (particularmente fitopatógenos o patógenos del ser humano), no así para organismos de vida libre. No obstante, con el uso de nuevas tecnologías como la secuenciación de nueva generación, citometría de flujo y bioinformática se están desarrollando metodologías y algoritmos para explorar redes de interacción, basadas en presencia ausencia o abundancia de los organismos, así como de información ambiental del sitio. Como resultado, es posible determinar si la interacción es de tipo positiva o negativa, lo cual lamentablemente genera un sesgo a una escala más fina (Faust *et al.*, 2012; Prosser, 2007). Durante mucho tiempo se pensó que las interacciones microbianas sólo se guiaban por dos únicas respuestas: la cooperación o la competencia. Por ello, el enfoque de redes y los modelos como el de *Lotka Volterra* se limitan a la evaluación de interacciones positivas y negativas. Sin embargo, ahora sabemos que puede existir un gradiente de interacciones, conformado por la respuesta de los dos individuos por ejemplo el antagonismo en donde un organismo presenta una respuesta favorable a la interacción y el otro una respuesta negativa (Friedman *et al.*, 2017).

Las interacciones microbianas de forma general se pueden definir de la siguiente forma: 1) cooperación: es aquella interacción donde ambos organismos obtienen una ganancia, incrementando su adecuación por ejemplo, en una simbiosis o en un tapete microbiano al evitar el estrés asociado a la desecación y al momento de compartir metabolitos (Faust *et al.*, 2012), 2) comensalismo: uno de los organismos obtiene un beneficio al estar en la presencia del otro organismo, mientras que el otro permanece neutral, 3) antagonismo: un organismo obtiene ventaja competitiva, mientras que el otro se ve afectado, produciendo así una interacción de ganancia-pérdida (por ejemplo, al secretar antibióticos capaces de eliminar a otros microorganismos que les puedan afectar directa o indirectamente (Deveau *et al.*, 2018)), 4) amensalismo: uno de los organismos se ve afectado por la presencia del otro, mientras que el otro organismo permanece neutral, y 5) competencia: ambas partes se ven afectadas por la presencia del otro, y ambos organismos generan estrategias para eliminar al

contrario, por lo que muchas veces se genera una carrera armamentista entre ellos, la cual puede continuar indefinidamente o terminar en otro tipo de interacción (**Fig. 1**) (Faust *et al.*, 2012).

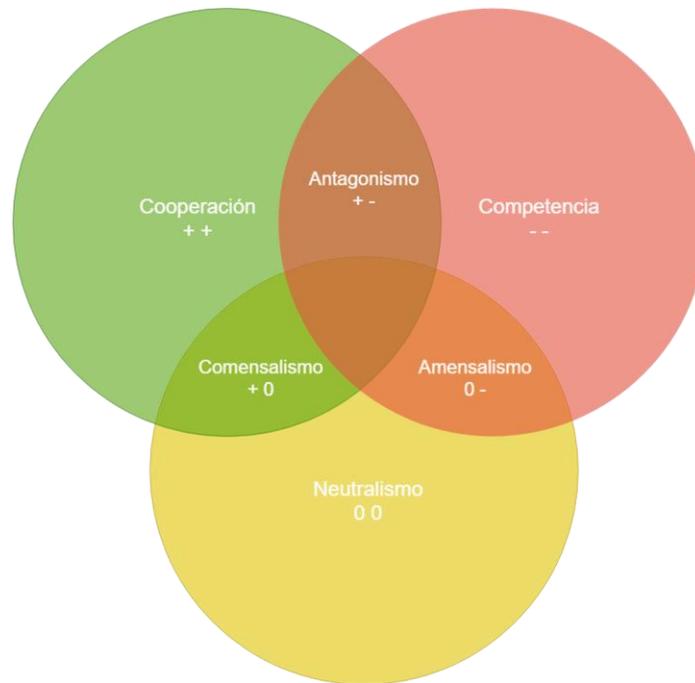


Figura 1. Diagrama de Venn mostrando los diferentes tipos de interacciones entre microorganismos. El color verde representa una interacción positiva, el rojo de una interacción negativa y el amarillo una interacción neutral.

Las interacciones se pueden estudiar de forma aislada, analizando solo la respuesta de dos organismos. Sin embargo, debemos comprender que en un ecosistema cada interacción es solo una pequeña parte de una compleja red de interacciones. Los diferentes tipos de interacción modelan a la comunidad microbiana generando un ambiente dinámico, el cual es la base del ecosistema. Por lo tanto, para analizar y comprender la dinámica de los ecosistemas o de las comunidades microbianas, es preciso entender primero a las interacciones de forma aislada, y posteriormente examinar la compleja red de interacciones en el ecosistema.

Gracias al estudio de este tipo de interacciones se han derivado varias teorías ecológicas, las cuales han intentado explicar el comportamiento de los organismos cuando se encuentran interactuando con uno o más individuos. Una de las primeras teorías fue la presentada por Hutchinson (1978), la cual propone la idea del nicho ecológico, que se define como la suma de todas las condiciones ambientales que actúan sobre un organismo en un espacio dimensional definido, y estas condiciones interactúan a su vez con otros espacios y otros organismos. Otras teorías que pueden utilizarse para el estudio de las interacciones entre microorganismos son, por ejemplo, la teoría de la Reina Roja, la Reina Negra, la Hipótesis del Gradiente de Estrés, la Teoría del Mercado Microbiano, entre otras (Faust *et al.*, 2012; Mas *et al.*, 2016; Prosser, 2007; Sachs *et al.*, 2012). En conjunto todas estas teorías reconocen que existen diferentes mecanismos microbianos que son resultado de las interacciones. Estas últimas se pueden presentar en un momento definido o a través del tiempo, y dependen de la disponibilidad de recursos ya sea nutrientes, espacio o genes específicos, los cuales mejoran la adecuación de los organismos.

1.4.1 Importancia de interacciones en ecosistemas de mar profundo

El mar profundo, al presentar condiciones ambientales extremas en cuanto a presión, temperatura o ausencia de luz solar, parecería un tanto inhóspito. Sin embargo, existe una gran cantidad de microorganismos adaptados a vivir bajo condiciones de poca luz solar, altas concentraciones de sales, compuestos altos en azufre o hidrocarburos, además de altas presiones hidrostáticas y cambios drásticos de temperatura (Dowell *et al.*, 2016; Horikoshi *et al.*, 1998; Kato *et al.*, 1995). Estos microorganismos constituyen diferentes nichos ecológicos e interactúan entre sí, generando relaciones de forma intraespecífica e interespecífica con otros organismos, dependiendo de su biología y de las condiciones ambientales en las que se encuentren. Por ejemplo, en las zonas mínimas de oxígeno se sabe que el dinamismo y la temporalidad que presenta el sistema genera interacciones variables entre sus integrantes. Esto se debe a que los organismos que no son tolerantes a cambios drásticos de concentraciones mínimas de oxígeno, cuando se genera anoxia, tienden a dispersarse si tienen posibilidad, migrando a zonas con más oxígeno. Esto cambia por completo la red de interacciones en un

sitio específico, y para el caso del organismo que migró, puede favorecer o no su adecuación en el nuevo sitio (Bertagnolli *et al.*, 2018; Hendrickx *et al.*, 2014; Wright *et al.*, 2012).

En el caso de los organismos tolerantes a la anoxia, las interacciones tienden a ser más estables, ya que coexisten en espacio-tiempo. Sin embargo, cuando las concentraciones de oxígeno cambian, las interacciones entre estos organismos pueden variar; esto, debido a que los organismos cambian su metabolismo en respuesta a diferentes condiciones de anoxia (Bertagnolli *et al.*, 2018). Por ello, podemos especular que las interacciones ecológicas que se establecen entre miembros de la comunidad microbiana pueden variar a lo largo del tiempo, en respuesta de fluctuaciones ambientales.

En un ecosistema como las ventilas hidrotermales, las interacciones entre los organismos que en ellas habitan son esenciales para la supervivencia. Un ejemplo canónico es la simbiosis bacteriana que se lleva a cabo con la especie *Riftia pachyptila* (Cavanaugh *et al.*, 1981), *R. pachyptila* es un gusano de tubo gigante que carece de sistema digestivo, por lo cual depende completamente de bacterias simbiontes oxidantes del azufre localizadas en tejidos altamente vasculares en donde ambos organismos intercambian moléculas de carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre para sus respectivos metabolismos (Minic *et al.*, 2004).

Los sistemas hidrotermales son considerados como uno de los ecosistemas más productivos no fotosintéticos del planeta. Aquí, los productores primarios metabolizan compuestos como metano, hidrógeno, azufre y nitrógeno (Ding *et al.*, 2017; Dowell *et al.*, 2016; Taylor *et al.*, 1999). Por lo tanto, las interacciones ecológicas van a ser indispensables en el ciclaje de nutrientes, en donde las bacterias, como parte de los productores primarios, generan una estrecha relación con los demás organismos no quimiolitótrofos en este ambiente. Los micromicetes (hongos microscópicos) por su parte participan de forma activa en la biodisponibilidad del carbono, y en algunos casos también del nitrógeno (Stief *et al.*, 2014; Jebaraj *et al.*, 2010). Además, pueden modular diferentes nichos ecológicos, para organismos susceptibles, como lo pueden ser algunas bacterias.

Gracias a estos metabolismos y a las interacciones entre los diferentes organismos, es que la vida prolifera en este ecosistema extremo (Deveau *et al.*, 2018).

1.5 Interacciones ecológicas microbianas

Los ensayos *in vitro* representan una técnica que se ha empleado exitosamente para descifrar los diferentes tipos de interacción entre microorganismos en una escala fina. En estos experimentos se evalúa la respuesta de dos organismos en condiciones de cultivo establecidas: concentraciones específicas de nutrientes o pH, una temperatura constante, o con un fotoperiodo determinado, entre otros aspectos (Prosser, 2007; Purahong *et al.*, 2016 Velez *et al.*, 2018). Por ello, los bioensayos de interacción se han aplicado en varios campos de la biología, por ejemplo, en estudios de biocontrol evaluando la respuesta de un fitopatógeno contra un microorganismo antagonico (Arnold *et al.*, 2003; Heist *et al.*, 2001). Los bioensayos también se han aplicado para analizar interacciones entre microorganismos de diferentes reinos en la hojarasca de un bosque, en donde se evalúa el rol que juegan hongos y bacterias en la descomposición y formación de materia orgánica (Purahong *et al.*, 2016), o al investigar el papel que juegan los nutrientes en organismos cultivados de un ambiente oligotrófico en un desierto mexicano (Velez *et al.*, 2018), por nombrar algunos estudios.

Realizar este tipo de experimentos *in vitro* es importante, ya que nos proporciona una aproximación de cómo se interrelacionan los organismos en un ambiente determinado. Además, permite la evaluación de algunas interacciones específicas al estudiar el efecto de características ambientales determinadas en la respuesta de los organismos y sus interacciones. Finalmente, nos permite examinar con mayor resolución cada una de las interacciones mediante el uso de análisis estadísticos (Faust *et al.*, 2012; Velez *et al.*, 2018).

No obstante, hay que tener en cuenta las limitaciones técnicas de los bioensayos. Estas están relacionadas principalmente con la evaluación aislada de dos organismos en condiciones controladas, ya que los ecosistemas son complejos polimicrobianos que presentan condiciones ambientales difíciles de reproducir en

el laboratorio. Por lo tanto, en algunos casos los organismos pueden presentar diferentes grados de estrés, lo que va a modificar su respuesta ante el otro microorganismo.

2. ANTECEDENTES

2.1 Exploración de la diversidad microbiana en zonas mínimas de oxígeno

La concentración de oxígeno disuelto en zonas mínimas de oxígeno juega un papel crucial en la composición de las comunidades de microorganismos que ahí habitan (Paulmier *et al.*, 2009). Estas comunidades se moldean de acuerdo con la concentración de oxígeno disuelto y de nutrientes. Bertagnolli y colaboradores (2018) describieron especies de bacterias capaces de usar el nitrógeno orgánico presente en urea o cianato para la oxidación del ion amonio a través del metabolismo anamox; además, identificaron organismos aerobios facultativos del género *Sagittula*. De esta manera estas zonas son claves en el ciclo del nitrógeno, en el contexto de los ciclos biogeoquímicos del océano.

En hongos, de igual forma se han encontrado organismos capaces de utilizar nitratos o nitritos mediante rutas metabólicas alternas a los metabolismos aerobios, siendo así organismos clave en la denitrificación del océano. Jebaraj y colaboradores (2010) a partir de la subunidad pequeña del gen 18S rARN identificaron organismos agrupados dentro del subphylum Saccharomycotina y del subphylum Pezizomycotina. La mayoría de los organismos identificados son facultativos, como las especies de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*; capaces de llevar a cabo la denitrificación anaerobia.

2.2 Exploración de la diversidad microbiana en sistemas hidrotermales

Las características extremas que presentan los sistemas hidrotermales han asombrado desde su descubrimiento a múltiples investigadores, por lo que, a lo largo de los años se han realizado exploraciones para poder

comprender cómo funciona la parte física, química, geológica y biológica de estos sistemas. En cuanto a su biodiversidad, se han cuestionado los mecanismos por los cuales un sistema puede ser sustentado por la quimioautotrofia microbiana (Ding *et al.*, 2017; Hessler *et al.*, 1995).

En sistemas hidrotermales se han investigado las comunidades microbianas asociadas a diferentes sustratos o en diferentes microambientes. Por ejemplo, en los tapetes microbianos que cubren las ventilas hidrotermales en el monte Loihi de Hawaii, a través de la técnica de secuenciación de clonas del SSU rADN se encontró que el Phylum más representativo es el de las Proteobacterias, dominado por los géneros de *Thiovulum*, *Xanthomonas*, *Alteromonas*, *Thiotrix* y *Mycobacterium* fueron los organismos dominantes. Cabe mencionar que algunas especies de estos géneros tienen la capacidad de oxidar azufre, lo que concordaría con los metabolismos esperados en los sistemas hidrotermales (Moyer *et al.*, 1995).

De igual forma, se ha explorado la diversidad en sedimentos asociados al sistema, a través de la amplificación de la región V4 del 16S ARNr con la plataforma Illumina MiSeq. Dichos resultados sugieren que en las ventilas del Suroeste de la Dorsal de la India, el Phylum de las Gammaproteobacteria es representativo, además de Thiotrichaceae, Xanthomonadales, Crenothrix, Ectothiorhodospiraceae, Piscirickettsiaceae, Oceanospirillales, Methylothermus, Nitrosococcus, Thiohalophilus, and Methylococcales (Ding *et al.*, 2017).

Cabe mencionar que los esfuerzos de muestreo en ventilas hidrotermales también se han enfocado en explorar la diversidad cultivable asociada al sedimento del sistema. Por ejemplo, se ha reportado que el Phylum dominante es el de las proteobacterias (87 aislados) seguido por los Firmicutes (37 aislados), Bacteroidetes (dos aislados) y finalmente Actinobacteria, dentro del sistema hidrotermal al norte de Okinawa, Japón. En este estudio la identificación molecular de las bacterias se realizó por medio de la secuenciación del gen que codifica para 16S ARNr (Sun *et al.*, 2015).

La diversidad de eucariontes microscópicos de igual forma ha sido explorada; sin embargo, en menor medida que otros grupos de organismos. Los hongos microscópicos dominan este tipo de ambientes, principalmente el Phylum Ascomycota (incluyendo levaduras y estados anamorfos). La mayoría de los estudios enfocados en conocer la diversidad fúngica de sistemas hidrotermales son cultivo dependientes, a diferencia de las bacterias. Un ejemplo de esto es el estudio de hongos filamentosos en diferentes sistemas hidrotermales del Suroeste del Pacífico presentado por Burgaud y colaboradores (2009), en el cual recuperaron la diversidad de hongos identificados a través del 18S rARN. Estos autores discuten que la diversidad fúngica principalmente se encuentra asociada a macroorganismos, y no tanto a el sustrato mineral de las ventilas. Además, reportan por primera vez organismos como *Aspergillus sydowii* en este ecosistema extremo.

De igual forma se ha investigado la diversidad de levaduras en seis sistemas hidrotermales identificando a los organismos con la región D1/D2 del gen 28S rARN. Este análisis demostró que la mayor diversidad de levaduras se encuentra asociada a la fauna, especialmente a camarones de la especie *Rimicaris exoculata* (Burgaud *et al.*, 2010). Este resultado pudo deberse a que en realidad se obtuvo la diversidad de levaduras que forma parte de la microbiota nativa del organismo, y no en sí de los sistemas hidrotermales. Otros estudios se han enfocado en investigar la diversidad fúngica a partir de sedimentos de la Dorsal del Suroeste de la India, identificando 14 taxa con el ITS1 e ITS2 rADN. Once taxa fueron identificados como Ascomycota con siete géneros, y tres Basidiomycota con dos géneros (Xu *et al.*, 2018). Algunos de los géneros encontrados fueron: *Acremonium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Cyphellophora*, *Phomopsis* y *Debaryomyces*, siendo algunos de ellos como *Penicillium* comunes en muestras ambientales y de ecosistemas extremos.

2.2.1 Sistema hidrotermales de Guaymas

México posee tres sistemas hidrotermales, uno bien estudiado en la cuenca de Guaymas, ubicada en el centro del Golfo de California. Teske y colaboradores (2002), al analizar la diversidad microbiana utilizando el gen 16S ARNr descubrieron que no existía un grupo filogenético de bacterias dominante en las clonas, puesto que la comunidad presentaba una alta abundancia de varios grupos, entre los que resaltan Épsilon y Delta

proteobacteria, así como el Phylum de las bacterias verdes no sulfurosas. Otros estudios en el sitio, en ventilas con altas concentraciones de sulfuro que se encuentran cerca de las costas de México (sobre la Dorsal del Pacífico del Este), han registrado varias especies pertenecientes al género *Vibrio*, las cuales han sido identificadas a partir del 16S ARNr y de sus genomas (Hasan *et al.*, 2015). Otro de los sistemas ha sido poco estudiado y se encuentra ubicado en 21° N (Lara-Lara *et al.*, 2008).

Recientemente, la presencia de nuevos parches de ventilas hidrotermales en el Sur del Golfo de California (**Fig. 2**), a lo largo de la Cuenca Pescadero (Cuenca Alarcón, Cuenca Alfonso, así como de la Falla Transformante Pescadero) fueron descritas. Asimismo, la diversidad faunística y su rol trófico en este recientemente descubierto sistema fueron evaluadas (Goffredi *et al.*, 2017; Paduan *et al.*, 2018; Salcedo *et al.*, 2019). Salcedo y colaboradores (2019) realizaron análisis isotópicos de la macrofauna en la Cuenca Pescadero y Falla Transformante Pescadero. Ellos reportan que pese a su proximidad ambos sitios poseen diferencias en la composición faunística, de redes tróficas y en su huella isotópica, lo cual se hipotetiza se encuentra fuertemente relacionado con los microorganismos que habitan en ambos subsistemas. Sin embargo, aún se desconocen los microorganismos que habitan en el sitio, así como sus capacidades ecológicas y metabólicas.

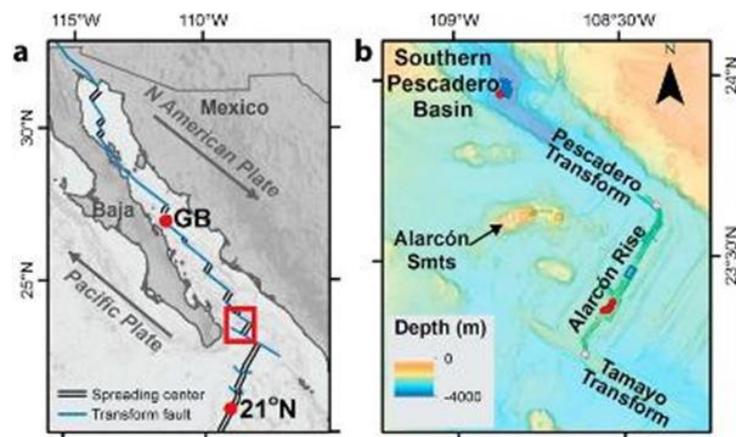


Figura 2. a) Mapa de los sitios hidrotermales en México. Con puntos rojos se marcan los sistemas hidrotermales conocidos tanto de la cuenca de Guaymas como del sitio 21° N. En el cuadro rojo se marca el reciente sistema hidrotermal del Sur del Golfo de California. b) Ampliación del mapa en donde se observa la

Cuenca Pescadero, la Falla Transformante Pescadero y la Dorsal de Alarcón marcando con rojo los sitios hidrotermales (Tomado de Paduan *et al.*, 2018).

3. HIPÓTESIS

La diversidad de microorganismos (bacterias y hongos) que habitan en los sistemas hidrotermales del sur del Golfo de California será más alta en comparación con otros ambientes del fondo marino ya que en los sistemas hidrotermales de mar profundo los microorganismos obtienen sus nutrientes a partir de compuestos inorgánicos y orgánicos, no disponibles en otras zonas del lecho marino. Por otra parte, en zonas mínimas de oxígeno la diversidad de microorganismos cultivables será menor en relación con el sistema hidrotermal. Esto a causa de las condiciones específicas de anoxia que se presentan en su ecosistema.

Además, se identificarán interacciones de competencia y cooperación en todos los bioensayos, las cuales cambiarán a lo largo del tiempo. Sin embargo, la interacción predominante será competencia, de acuerdo con la teoría de la Reina Roja, en la cual se plantea que la competencia interespecífica desempeña un papel fundamental para evitar la extinción de las especies.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar la diversidad de bacterias y hongos cultivables provenientes de muestras de sedimento de una zona mínima de oxígeno y del sistema de ventilas hidrotermales del Sur del Golfo de California, así como las posibles interacciones *in vitro* que se puedan establecer entre aislados de hongos y bacterias clave.

4.2 Objetivos particulares

- Aislar las bacterias y los hongos a partir de subnúcleos de sedimento colectados en los sistemas hidrotermales: Cuenca Pescadero, Dorsal de Alarcón y Falla Transformante de Pescadero, así como en una zona mínima de oxígeno utilizando dos medios de cultivo.
- Identificar taxonómicamente a los microorganismos a través del análisis de amplicones de los genes que codifican para el 16S ribosomal en bacterias, e ITS1-5.8S-ITS4 ADN ribosomal para hongos.
- Preservar los aislados y su material genético *ex situ* en una colección de cultivos.
- Analizar las posibles interacciones ecológicas *in vitro* que se establezcan entre un selecto grupo de bacterias y de hongos.

5. JUSTIFICACIÓN

El presente estudio representa la primera contribución al conocimiento sobre la diversidad de bacterias y hongos cultivables de las ventilas hidrotermales y zona mínima de oxígeno del Sur del Golfo de California en México, así como la primer contribución sobre las posibles interacciones que están llevándose a cabo entre algunos de estos organismos. Actualmente se siguen descubriendo ventilas hidrotermales a lo largo de las dorsales medio oceánicas, siendo cada una de ellas diferente en la composición de su biota nativa y características biogeoquímicas (Goffredi *et al.*, 2017); por lo anterior, resulta fundamental la caracterización de estos ecosistemas únicos, los cuales, aunque son considerados como ambientes extremos, albergan un gran número de organismos adaptados a sus diferentes nichos (Brazelton, 2017).

Los estudios cultivo dependientes son una herramienta útil en la microbiología ecológica. Ya que permiten entender de forma más detallada e integral a los organismos, desde su identificación molecular, hasta sus interacciones con otros organismos, o el estudio de metabolitos secundarios, etc. Asimismo, son una

herramienta clave para la preservación *ex situ* de los recursos genéticos para estudios *a posteriori*. Por otra parte, este tipo de estudios contribuye a conocer la biodiversidad de zonas de interés para la explotación de la industria minera, como es el Golfo de California; esto proporciona una aproximación para establecer la importancia de estos ecosistemas, su biota nativa y rol ecológico, así como su uso en la bioprospección, generando interés para la conservación.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Sitio de estudio y muestreo

En el 2003 el Monterey Bay Aquarium Research Institute (MBARI) realizó dos expediciones con *ROVs* (Remotely Operated Underwater Vehicle) en la Dorsal de Alarcón. Esta zona inexplorada está situada al norte de la Dorsal del Pacífico Oriental, entre dos áreas conocidas de sistemas hidrotermales (el sistema de Guaymas y el ubicado a 21°N de la Dorsal del Pacífico del Este). Sin embargo, al no poseer mapas detallados, no se registraron indicios de la presencia de las ventilas u organismos asociadas a ellas, por lo que no se continuó con la investigación. No obstante, durante el 2012 se detectaron anomalías térmicas en el fondo oceánico al Sur del Golfo de California, justo en la Dorsal de Alarcón, las cuales suelen estar asociadas a la presencia de sistemas hidrotermales (Goffredi SK *et al.* 2017). Por lo tanto, en el 2015 se realizó una expedición a bordo del buque oceanográfico *Western Flyer*, durante la cual se descubrieron tres subsistemas de ventilas y se caracterizaron los procesos geológicos asociados a ellas. Se obtuvieron núcleos de sedimento con el uso de un brazo articulado del *ROV Doc Ricketts*. Estas muestras fueron donadas amablemente por el Dr. Luis A. Soto González, del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología para realizar la presente investigación. A continuación, se describen las características de cada uno de los sitios de estudio (**Fig. 3**).

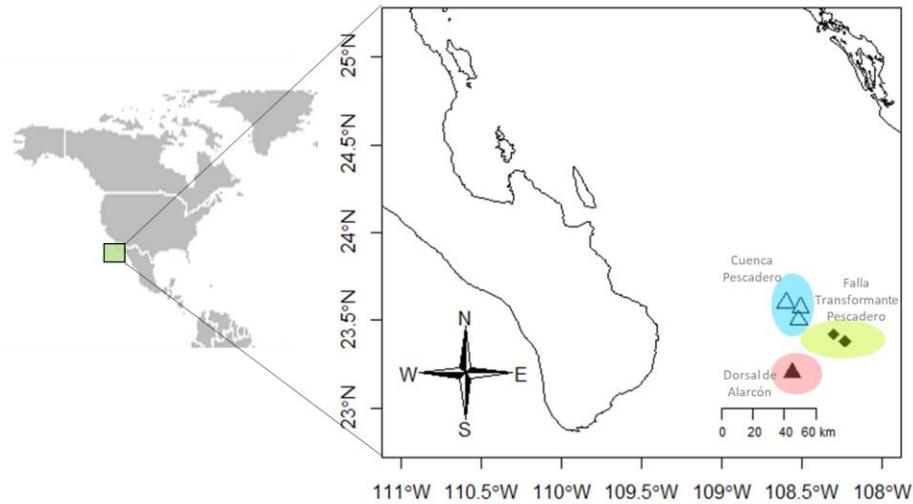


Figura 3. Mapa del área de estudio, en donde se muestra el sistema hidrotermal del Sur del Golfo de California y sus subsistemas. En azul la Cuenca Pescadero, en verde la Falla Transformante de Pescadero y en rojo la Dorsal de Alarcón.

6.1.1 Zona Mínima de Oxígeno

Por cuestiones logísticas inherentes a la campaña oceanográfica, no se cuenta con información ambiental detallada del área de estudio. Las coordenadas de sitio actualmente se encuentran a resguardo del Monterrey Bay Aquarium Research Institute, por lo que no se presentan en este trabajo.

6.1.2 Sistema hidrotermal del Sur del Golfo de California

Este sistema comprende un área con tres subsistemas hidrotermales, compuestos por parches de ventilas hidrotermales y procesos geológicos asociados a ellas que son completamente diferentes entre sí (Goffredi *et al.*, 2017; Clague *et al.*, 2018; Paduan *et al.*, 2018). A continuación, se describen algunas características particulares de cada uno de los subsistemas (**Tabla 1**).

Tabla 1. Listado de localidades analizadas y sus características distintivas.

Localidad	Sitio	Tipo de subsistema	Latitud	Longitud	Profundidad (m)	Características ambientales
Dorsal de Alarcón	DA	Ventila alta temperatura	23 21.1739	108 33.57	2176.2	Presencia de Basaltos
Cuenca Alfonso	ZMO1	Zona mínima de oxígeno	NA	NA	NA	NA
Cuenca Alfonso	ZMO2	Zona mínima de oxígeno	NA	NA	NA	NA
Cuenca Pescadero	CP2	Ventila alta temperatura	23 57.4216	108 51.7215	3680.4	Abundancia de calcitas
Cuenca Pescadero (sur)	CP1	Ventila alta temperatura	23 57.4329	108 51.75	3679.7	Abundancia de calcitas
Cuenca Pescadero (sur)	CP3	Ventila alta temperatura	23 57.4081	108 51.6	3689.7	Abundancia de calcitas
Falla Transformante Pescadero	FTP2	Ventila baja temperatura	23 38.5135	108 23.6	2382.7	Presencia de hidrocarburos
Falla Transformante Pescadero	FTP1	Ventila baja temperatura	23 38.5193	108 23.6692	2397.9	Presencia de hidrocarburos

6.1.2.1 Dorsal de Alarcón

Ubicada al Sur del Golfo de California, se encuentra en el segmento norte de la Dorsal del Pacífico Este (East Pacific Rise) a una distancia de 275 km del sistema hidrotermal que se encuentra a 21°N a lo largo de la Falla Transformante de Tamayo. Posee un área total de alrededor de 164km². Este subsistema hidrotermal presenta flujos de lava joven superficiales, y carece de depósitos de sedimento continental. Se encuentra conformado por 109 chimeneas, de las cuales 31 se encuentran activas, 53 inactivas y 25 se desconoce de su actividad. Estas ventilas se distribuyen en cuatro campos o parches con chimeneas activas en los sitios de Meyimbó, Ja Sít, Pericu y Tzab-ek; tres de estos sitios se caracterizaron como magmáticamente robustos (Meyimbó, Ja Sít y Pericu).

Las ventilas hidrotermales en este sistema son catalogadas como *Black smokers*, con chimeneas formadas a partir de depósitos de precipitados del flujo hidrotermal. Las chimeneas están compuestas de sulfuros polimetálicos como hierro, cobre y sulfuros de zinc sobre roca basáltica. Además, contienen plagioclastos, olivinos y cilanopyroxenos. Los fluidos hidrotermales presentan altas concentraciones de sulfuro de hidrógeno, pero bajas concentraciones de hidrógeno, metano e hidrocarburos. Alrededor de las chimeneas se encuentra la presencia de flujos difusos de color lechoso o blancos, con bajas temperaturas y alta riqueza de organismos.

La chimenea más alta de este subsistema cuenta con una altura de 33m y 60m en la base. Las temperaturas de los flujos hidrotermales en el subsistema hidrotermal de la Dorsal de Alarcón oscilan entre los 359 C, por lo cual es considerado un sistema de alta temperatura. La profundidad promedio es de 2176.2m.

6.1.2.2 Cuenca Pescadero

Este subsistema hidrotermal se encuentra a 60 km al Noroeste de la Falla Transformante Pescadero, y es un conjunto de tres fosas tectónicas de aproximadamente 3800 metros de profundidad. En total mide alrededor de 22.9 km², y posee depósitos de sedimentos continentales de más de 50 metros de grosor. El subsistema tiene edificaciones en forma de montículos, con flujos difusos compuestos principalmente de calcita que presentan fluidos claros y numerosos montículos pequeños y activos. Además, se observaron flujos difusos cercanos, que emergen entre el sedimento con temperaturas de aproximadamente 90°C. Sobre estos montículos se pueden presentar chimeneas con flujos hidrotermales con pH alrededor de 6.5 y temperaturas que llegan a más de 291°C, por lo que son consideradas como ventilas de alta temperatura.

Las edificaciones la Cuenca Pescadero se componen de calcita hidrotermal blanca y café, además presentan fluidos hidrotermales con alta concentración de hidrocarburos aromáticos, hidrógeno, metano y sulfuro de hidrógeno; cabe mencionar que sobre estas edificaciones se presentan gruesas capas de tapetes microbianos. En este subsistema destacan tres montículos hidrotermalmente activos con dimensiones de 15-30m de

diámetro de base y 12-25m de altura. En el subsistema de la Cuenca Pescadero no se encontró presencia de *Black smokers*.

6.1.2.3 Falla Transformante Pescadero

Es una zona de cizalla, la cual presenta flujos de lava jóvenes; sin embargo, las ventilas hidrotermales presentes en el área, a diferencia de la Dorsal de Alarcón, son de baja temperatura. La profundidad promedio del sitio es de 2397m. Cabe mencionar que este subsistema hidrotermal no ha sido explorado a profundidad, a diferencia de la Dorsal de Alarcón y la Cuenca Pescadero, por lo cual no se cuenta con información detallada.

6.2 Procesamiento *ex situ* y aislamiento

El sedimento colectado se utilizó para realizar la técnica de vaciado en placa, en dos medios de cultivo diferentes: uno alto en carbohidratos, Papa Dextrosa Agar (PDA; 200 g de papa, 20 g de dextrosa, 1000 ml agua destilada), y otro bajo en carbohidratos, Harina de Maíz Agar (CMA; 60 g granos de maíz molidos, 15 g agar, 1000 ml de agua destilada), con el fin de poder obtener organismos que presentan diferentes requerimientos metabólicos. Las cajas Petri se incubaron a temperatura ambiente, y bajo condiciones de total oscuridad por 30 días.

Las cajas se examinaron periódicamente para detectar desarrollo microbiano (bacteriano y/o fúngico). Posteriormente se identificaron los diferentes morfotipos tanto de hongos como de bacterias, y se transfirieron subsecuentemente a cajas Petri nuevas con medio PDA. Los aislados axénicos se incubaron a temperatura ambiente y bajo condiciones de total oscuridad hasta que las colonias mostraron un crecimiento óptimo para su procesamiento e identificación.

6.4 Preservación *ex situ* en una colección de cultivos

Con el fin de tener un reservorio genético-biológico, los microorganismos se preservaron *ex situ* en una colección. Las bacterias se preservaron en glicerol al 25% y a temperatura de -80°C para la formación de un cepario y su uso en futuras investigaciones. El cepario en donde se encuentran forma parte del Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental del Instituto de Ecología. En el caso de los hongos, se crecieron en medio de cultivo sólido PDA en tubos Falcon a temperatura ambiente. La colección micológica en la cual se depositaron se encuentra ubicada en el laboratorio Ecología Molecular de Micromicetes en Ecosistemas Amenazados, C-121, del Instituto de Biología.

6.5 Identificación

6.5.1 Extracción de ADN y amplificación

Bacterias

A partir de cultivos axénicos, se realizó la extracción de ADN genómico de bacterias utilizando el kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, Hilden, Germany), siguiendo las instrucciones del fabricante para cada muestra. Posteriormente, por medio de la técnica de PCR se obtuvieron amplicones del gen que codifica para el marcador universal de 16S ARNr (27F - 1492R) (Lane, 1991). Sin embargo, debido a la presencia de inhibidores en la muestra del ADN se realizaron diluciones seriadas a las concentraciones: 1:10, 1:100 y 1:1000.

Asimismo, se utilizaron dos protocolos de PCR, uno de ellos de PCR directo. El primer protocolo se realizó con las siguientes especificaciones: 10µl Buffer 5x, 3µl MgCl₂ 25 mM, 1µl dNTPs 10 mM, 1.5µl primer 27F 10 µM, 1.5 primer 1492R 10 µM, 0.2µl Taq Polimerasa 5 unidades por microlitro, 31.8µl H₂O, 1µl ADN muestra. Para este protocolo el programa del termociclador utilizó la siguiente rutina térmica: predesnaturalización a 94°C por 180 segundos, seguido de 30 ciclos con las siguientes especificaciones: desnaturalización a 94°C por 60 segundos, alineamiento a 52°C por 60 segundos y elongación a 72°C por 80

segundos, seguido de una elongación final a 72°C por 180 segundos. Posteriormente, los productos de PCR se conservaron a 4°C.

El protocolo de PCR directo fue utilizado para muestras que presentaban inhibidores, y al realizar las diluciones seriadas no mejoró la calidad del producto del PCR. Para este fin se utilizó el kit de PCR directo Phire Animal Tissue PCR Kit (ThermoFisher Scientific; Waltham, MA, USA). El protocolo para el programa de termociclador siguió las especificaciones presentadas a continuación: 25µl de 2x Phire Animal Tissue PCR Buffer, 2.5µl primer 27F 10 µM, 2.5 primer 1492R 10 µM, 1µl Phire Hot Start II ADN polimerasa, 19µl H₂O, 1µl ADN muestra. El programa del termociclador fue el siguiente: predesnaturalización a 98°C por 300 segundos; seguido de 40 ciclos con las siguientes especificaciones: desnaturalización a 98°C por 5 segundos, alineamiento a 52°C por 10 segundos y elongación a 72°C por 30 segundos, seguido de una elongación final a 72°C por 60 segundos. Posteriormente, los productos de PCR se conservaron a 4°C.

Hongos

Con los cultivos axénicos se realizaron extracciones de ADN genómico mediante el protocolo de CTAB (Doyle and Doyle, 1987). A partir de estas muestras de ADN se amplificó por medio de la técnica de PCR la región que codifica para ITS1 - 5.8S - ITS4 (White *et al.*, 1990) siguiendo diferentes protocolos de PCR y diluciones seriadas (1:10, 1:100 y 1:1000), debido a la presencia de inhibidores en las muestras de ADN. Posteriormente, se realizaron electroforesis en gel de agarosa al 1% para evaluar la calidad de los amplicones forma cualitativa.

Para el primer protocolo las especificaciones del PCR utilizadas para una reacción fueron las siguientes: 10µl Buffer 5x, 3µl MgCl₂ 5 mM, 1µl dNTPs 10 mM, 1.5µl primer 27F 10 µM, 1.5 primer 1492R 10 µM, 0.2µl Taq Polimerasa 5 unidades por microlitro, 31.8µl H₂O, 1µl de ADN muestra. Para este protocolo el programa de termociclado fue: predesnaturalización a 94°C por 180 segundos; seguido de 30 ciclos con las siguientes especificaciones: desnaturalización a 94°C por 30 segundos, alineamiento a 55°C por 30 segundos y

elongación a 72°C por 60 segundos, seguido de una elongación final a 72°C por 180 segundos. Posteriormente, los productos de PCR se conservaron a 4°C.

Algunos de los productos de PCR presentaron bandas inespecíficas; por lo tanto, se necesitó realizar el protocolo de PCR directo. Para este fin se utilizó el kit de PCR directo Phire Animal Tissue PCR Kit (ThermoFisher Scientific; Waltham, MA, USA). El protocolo para el programa de termociclador siguió las especificaciones presentadas a continuación: 25µl de 2x Phire Animal Tissue PCR Buffer, 2.5µl primer ITS1 10 µM, 2.5 primer ITS4 10 µM, 1µl Phire Hot Start II ADN polimerasa, 19µl H₂O, 1µl ADN muestra. El programa del termociclador fue el siguiente: predesnaturalización a 98°C por 300 segundos; seguido de 35 ciclos con las siguientes especificaciones: desnaturalización a 98°C por 5 segundos, alineamiento a 55°C por 5 segundos y elongación a 72°C por 25 segundos, seguido de una elongación final a 72°C por 60 segundos. Posteriormente, todos los productos de PCR se conservaron a 4°C.

Los productos de PCR obtenidos se secuenciaron con el método de Sanger en el Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud del Instituto de Biología de la UNAM.

6.6 Análisis bioinformáticos

En el caso de las secuencias de bacterias se utilizó Ribosomal Data Base Project (versión: 11) para alinear las secuencias. Posteriormente, se realizó un análisis de homología entre secuencias a partir del algoritmo de BLAST (*e*-value >0.001) utilizando las bases de datos de NCBI (versión: dbv4) y Ribosomal Data Base. La asignación taxonómica se llevó a cabo siguiendo los criterios de Barghouthi (2011) en donde se reportan valores de homología entre 98-100% para la categoría a nivel de especie, 95-98% para nivel género y 80-93% para nivel de orden; ponderando el uso de secuencias de referencia con valores de cobertura $\geq 94\%$ y correspondientes a ejemplares tipo y trabajos publicados. En caso de secuencias en conflicto (con homología correspondiente a dos o más entidades taxonómicas) se utilizó el criterio del nivel más bajo de concordancia

para la asignación taxonómica. Posteriormente se compararon estos resultados con un árbol de máxima verosimilitud realizado con el programa MegaX (versión: 10.0.5) utilizando el modelo *Tamura-Nei* definido por Jmodel test (versión: 2.1.10), con lo cual se logró confirmar la asignación taxonómica.

Por otra parte, las secuencias de hongos se editaron en el programa Bioedit (versión: 7.0.5.3) y posteriormente se alinearon en el programa Ugene (versión: 1.32.0). Con las secuencias alineadas de hongos se utilizó el algoritmo de BLAST ($e\text{-value} > 0.001$) para realizar un análisis de comparación de homología entre secuencias con las bases de datos de NCBI (versión: dbv4) y UNITE (versión: 8.1). Para la identificación taxonómica de este grupo se ocupó de referencia el trabajo de Millberg y colaboradores (2015), donde se reportan valores de homología entre 98-100% para la categoría a nivel de especie, 94-97% para nivel género y 80-93% para nivel de orden; ponderando el uso de secuencias de referencia con valores de cobertura $\geq 94\%$ y correspondientes a ejemplares tipo y trabajos publicados. En caso de secuencias en conflicto (con homología correspondiente a dos o más entidades taxonómicas) se utilizó el criterio del nivel más bajo de concordancia para la asignación taxonómica. De igual forma se realizó un árbol de máxima verosimilitud en el programa MegaX (versión: 10.0.5) utilizando el modelo *General time reversible* definido por Jmodel test (versión: 2.1.10), con lo cual se logró confirmar la asignación taxonómica.

6.7 Interacciones

6.7.1 Bioensayos de interacciones

Del total de microorganismos aislados, se seleccionaron seis bacterias y cuatro hongos, a partir de observaciones fenotípicas y de establecimiento de interacciones aparentes durante el proceso de aislamiento. Sobre los cuatro hongos, organismos seleccionados fueron: una especie de la familia *Aspergillaceae*, una especie del género *Penicillium* y dos especies del orden *Sordariales*. Las bacterias seleccionadas para los bioensayos fueron: una especie del género *Massilia*, tres especies del género *Bacillus* y dos organismos que no fue posible identificar. Con estos organismos se realizaron bioensayos intraespecíficos e interespecíficos en

medio de cultivo marino (Medio marino; 5 g peptona, 1 extracto de levadura, 0.08 g KBr, 0.034 g SrCl₂, 0.022 g H₃BO₃, 0.024 NaF, 0.016 g NH₄NO₃, 0.08 g Na₂HPO₄, 0.004 g Na₂SiO₃, 5 g NaCl, 2.2 g MgCl₂, 1 g Na₂SO₄, 0.4 g CaCl₂, 15 g agar, 1000 ml agua destilada).

Los bioensayos de bacterias se inocularon a partir de un cultivo axénico en medio sólido de la cepa, con 24 horas de crecimiento. Se tomó una asada de una colonia y se realizó la dilución en NaCl al 7%, observando que la densidad óptica fuera 1A (DO 600nm). Posteriormente, en las cajas con medio sólido se colocaron 4μl de cada dilución a una distancia de 5mm. Para cada cepa se consideraron controles (monocultivos). Tanto los bioensayos como los controles fueron inoculados por triplicado y se dejaron crecer en condiciones de oscuridad y a temperatura ambiente por 14 días.

En el caso de los bioensayos de hongos, se obtuvo el inóculo a partir de un cultivo axénico. Un cubo de aproximadamente 25 mm³ de agar con inóculo fúngico, se colocó a 5 mm de distancia del otro inóculo, en una caja Petri con medio marino. De igual forma, se consideraron controles (monocultivos) para cada organismo y se realizaron triplicados, tanto de los bioensayos como para los controles. La incubación de las cajas se realizó a temperatura ambiente y en condición de total oscuridad, por 21 días.

En cuanto al bioensayo de bacterias y hongos, se realizó siguiendo las especificaciones antes mencionadas para cada uno de los grupos. Al momento de la inoculación, se dejó una distancia de cinco mm entre ambos inóculos, y se utilizaron las condiciones de cultivo de temperatura ambiental y total oscuridad, a lo largo de 21 días. De igual forma se realizaron triplicados y controles (monocultivos) de este bioensayo.

6.8 Índices de interacción

6.8.1 Medición de crecimiento

Todos los bioensayos se monitorearon cada dos días, a partir de las 24 horas después de la inoculación. Se tomó un registro fotográfico, usando la cámara fotográfica digital Nikon COOLPIX L840 (Nikon Inc., Tokyo, Japan), hasta el fin del experimento (21 días para los bioensayos de interacción entre hongos y bacterias y hongos; 14 días para los bioensayos de interacciones entre bacterias). Las fotografías obtenidas fueron procesadas con el programa ImageJ (versión: 1.50i), con el cual se midió el área total de la colonia, el radio central (C), la distancia total (D), el radio máximo (RM), los radios laterales (r_1 , r_2 , r_3 y r_4) (**Fig. 4**).

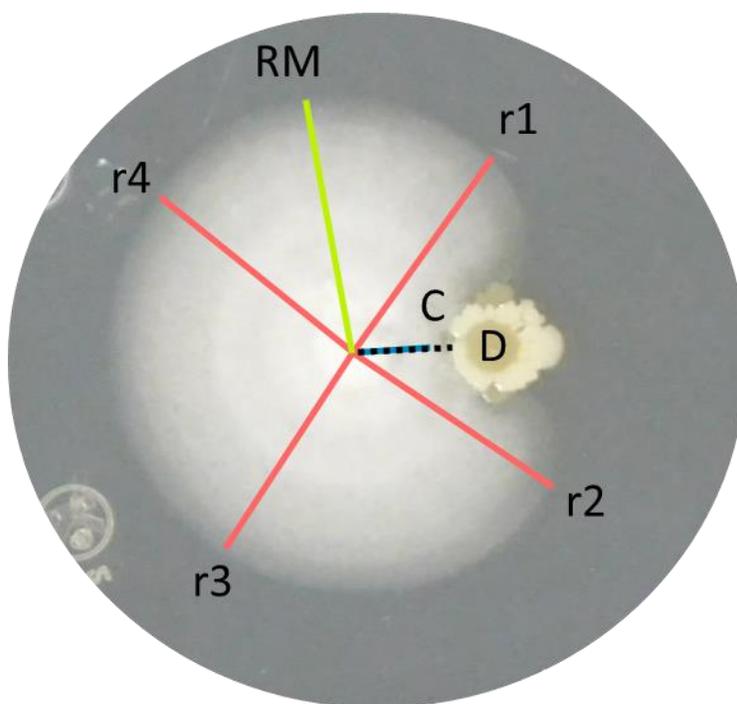


Figura 4. Se muestran las medidas obtenidas a partir de las imágenes de bioensayos de interacción usando como ejemplo la interacción entre *Penicillium* sp. y *Bacillus* sp. 2. (C) Radio central: distancia desde el centro del inóculo hasta el final del aislado (en azul bajo la línea punteada), frente al organismo interactuante; (D) Distancia total: distancia desde el centro del inóculo, hasta el borde del aislado del organismo interactuante (raya punteada); (RM) Radio máximo: radio cuya distancia es mayor a cualquier radio de la colonia (en verde);

r) Radios laterales (r1, r2, r3 y r4): distancia en 45° sobre toda la circunferencia, a partir del radio central (rayas en rojo).

6.8.2 Selección de índices de interacción

En la literatura se reportan diferentes índices de crecimiento para evaluar interacciones en co-cultivo (Santamaría et al., 2007; Mishra, 2010; Royse and Ries, 1978; Orole and Adejumo, 2009). Estos índices se utilizan individualmente en cada estudio. No obstante, cada índice por sí solo es insuficiente para medir las diferentes interacciones ecológicas, puesto que solo se evalúa el crecimiento de un organismo individualmente, y no la reacción entre ambos organismos en interacción. Por lo tanto, la información que proporcionan estos índices se obtiene un panorama general del tipo de interacción; sin embargo, también generan un sesgo sobre los tipos de interacción ecológica que existen.

Tomando esto en cuenta, se realizó una búsqueda bibliográfica sobre índices de interacción en co-cultivo de microorganismos, y se procedió a seleccionar, modificar y proponer nuevos índices para el análisis de interacciones ecológicas entre bacterias y hongos. Finalmente, se seleccionaron seis índices matemáticos de crecimiento microbiano, los cuales se presentan a continuación en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Índices de interacción utilizados.

Índice de interacción			
Crecimiento en interacción	$II = \left(1 - \frac{GI - II}{Gc - Ic}\right)$	GI= Área de crecimiento en interacción día final Gc= Área de crecimiento en control día final II= Área de crecimiento	Modificado de Mishra, 2010

		en interacción día inicial Ic= Área de crecimiento en control día inicial	
Morfología Frontal	$CI = \frac{\sum R_i}{n} - C$	R= Radios laterales C= Radio central	Santamaría <i>et al.</i> , 2007
Morfología Radial	$RM = \frac{\sum R_p}{n} - \frac{\sum R_n}{n}$	RP=Radios laterales frente al organismo interactuante RN=Radios laterales posteriores al organismo interactuante	Propuesto en el presente trabajo
Inhibición Central	$InhC = 100 \times \left(\frac{RM - C}{RM} \right)$	RM=Radio máximo C=Radio central	Modificado de Royse y Ries, 1978
Morfología Central	$Cax = 1 - \frac{Cif - Cii}{Ccf - Cci}$	Cif= Radio central en interacción día final Ccf= Radio central en control día final Cii= Radio central en interacción día inicial Cci= Radio central en control día inicial	Modificado de Oroled y Adejumo, 2009
Desplazamiento	RM	RM = Dirección del radio máximo	Propuesto en el presente trabajo

7. Resultados

7.1 Diversidad microbiana cultivable

7.1.1 Identificación de organismos

Se obtuvieron 319 aislados bacterianos, de los cuales se tomó una muestra al azar proporcional a la cantidad de aislados por sitio, siendo un total de 50 bacterias, de las cuales se identificaron 42 organismos, agrupados en 18 OTUs (**Apéndice 1, Fig. 5, Fig. 6**). En el caso de los hongos en total se aislaron 29 organismos, y se identificaron 26 aislados, agrupados en 19 OTUs (**Apéndice 2, Fig. 5, Fig. 7**).

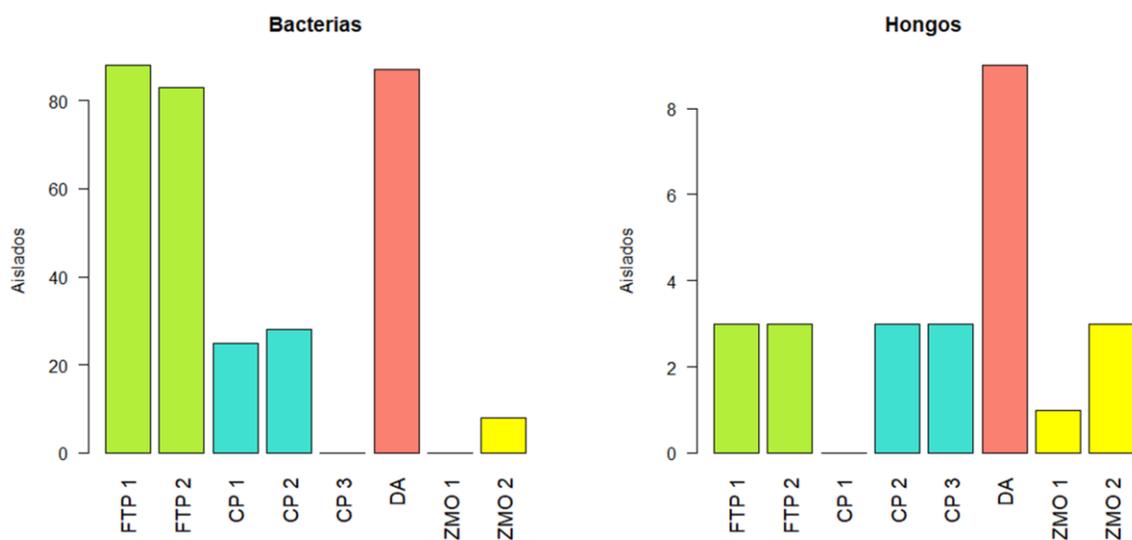


Figura 5. Número de aislados microbianos obtenidos por sitio de estudio. En donde las barras de color verde indican la Falla Transformante Pescadero con dos sitios (FTP 1 y FTP 2); las barras de color azul señalan la Cuenca Pescadero con tres sitios (CP 1, CP 2 y CP 3); la barra roja muestra la Dorsal de Alarcón (DA) con un sitio y finalmente las barras amarillas señalan los dos sitios de las zonas mínimas de oxígeno (ZMO 1 y ZMO2).

Las cepas bacterianas identificadas corresponden a dos Phyla: Firmicutes y Proteobacteria, representados por tres clases: Gammaproteobacteria, Betaproteobacteria y Bacilli, repartidos en 4 familias: Enterobacteriaceae, Oxalobacteraceae, Paenibacillaceae, Pseudomonadaceae, los cuales se encuentran incorporados en cinco géneros: *Bacillus*, *Klebsiella*, *Massilia*, *Paenibacillus* y *Pseudomonas* (**Apéndice 1**). Por otro lado, en el caso de los hongos todos los aislados corresponden al Phylum: Ascomycota, distribuidos en tres clases: Eurotiomycetes, Dothideomycetes y Sordariomycetes (**Apéndice 2**).



Figura 6. Análisis de Máxima Verosimilitud para las secuencias de bacterias

El árbol de Máxima verosimilitud se infirió utilizando el modelo de *Tamura-Nei* (Nei M. y Kumar S. 2000) asignado por Jmodel Test (versión: 2.1.10). Se muestra el árbol con la mayor probabilidad de registro (-4315.04). El porcentaje de árboles en los que los taxones asociados se agrupan se muestra junto a las ramas. Se utilizó una distribución Gamma discreta para modelar las diferencias de velocidad evolutiva entre los sitios (4 categorías (+ G, parámetro = 0.2560)). El árbol se dibuja a escala, con longitudes de rama medidas en el número de sustituciones por sitio. Este análisis involucró 90 secuencias de nucleótidos. Hubo un total de 575 posiciones en el conjunto de datos final. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA X (versión: 10.0.5) (Kumar *et al.*, 2018).

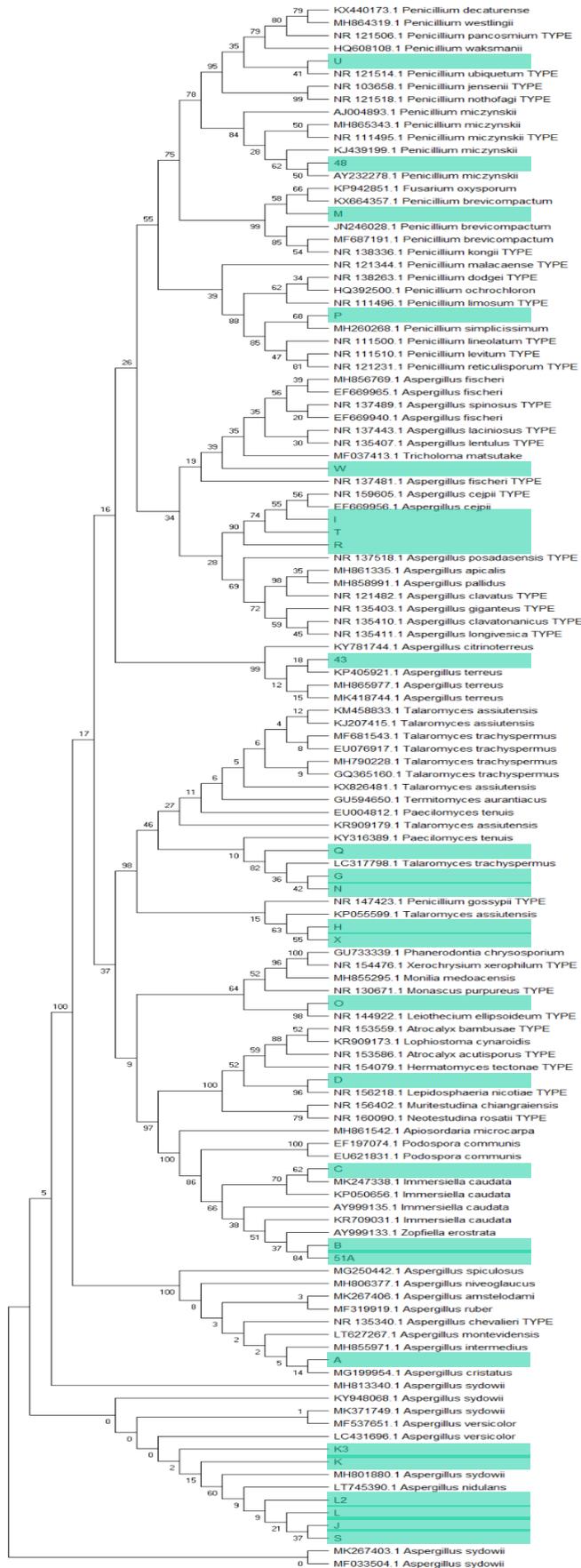


Figura 7. Análisis de Máxima Verosimilitud para las secuencias de hongos

El árbol de Máxima verosimilitud se infirió utilizando el modelo de tiempo general reversible (Nei M. y Kumar S. 2000) asignado por Jmodel Test (versión: 2.1.10). Se muestra el árbol con la mayor probabilidad de registro (-7483.45). El porcentaje de árboles en los que los taxones asociados se agrupan se muestra junto a las ramas. Se utilizó una distribución Gamma discreta para modelar las diferencias de velocidad evolutiva entre los sitios (4 categorías (+ G, parámetro = 0.5504)). El árbol se dibuja a escala, con longitudes de rama medidas en el número de sustituciones por sitio. Este análisis involucró 128 secuencias de nucleótidos. Hubo un total de 596 posiciones en el conjunto de datos final. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA X (versión: 10.0.5) (Kumar et al., 2018).

7.1.2 Organismos encontrados por sitio de estudio

En cuanto a la diversidad de bacterias la Dorsal de Alarcón (DA) presentó seis OTUs con diez cepas, mientras que la Cuenca Pescadero 2 (CP2) exhibió tres OTUs con cuatro cepas, de la Cuenca Pescadero 3 (CP3) no se obtuvieron aislados y de la cuenca Pescadero 1 (CP1) se recuperó una OTU de una cepa. En cuanto a la Falla Transformante Pescadero 2 (FTP2) ostentó ocho OTUs de las 18 totales encontradas en todos los sitios con un total de 13 cepas; mientras que en la Falla Transformante 1 (FTP 1) presentó nueve OTUs y 12 cepas compartiendo pocas OTUs (3 OTUs) con el otro sitio evaluado en la Falla Transformante. En la zona mínima de oxígeno 1 (ZMO1) no se recuperó ningún aislado mientras que en la zona mini de oxígeno 2 (ZMO2) se encontró una OTU con dos aislados (**Fig. 8**).

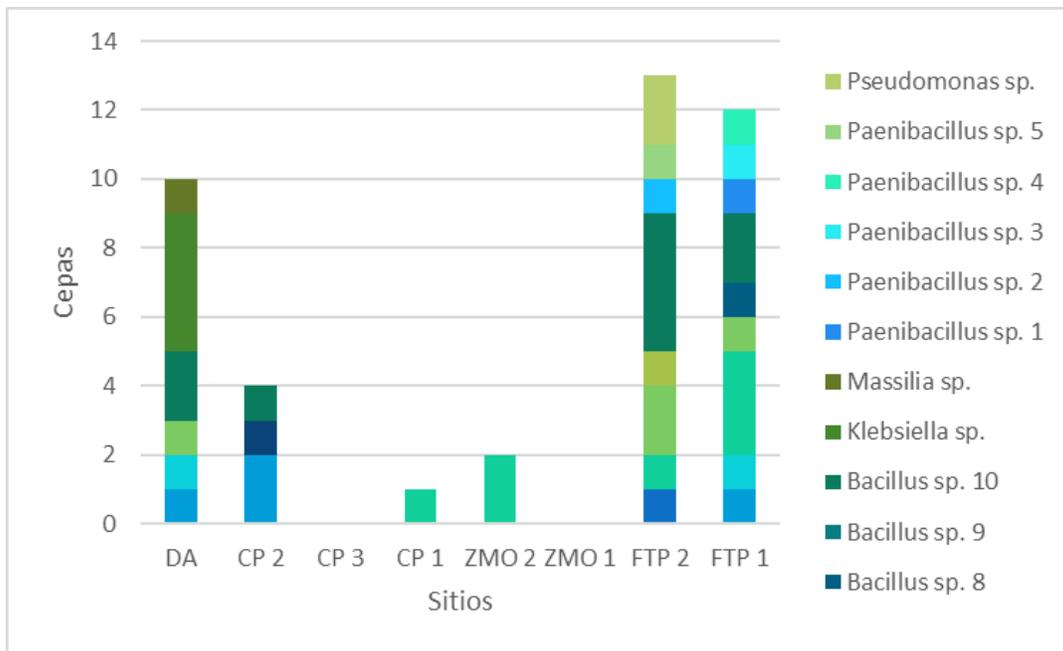


Figura 8. Se muestran las OTUs obtenidas para bacterias por sitio de estudio y la cantidad de aislados por OTU. Los sitios se encuentran señalados como la Falla Transformante Pescadero con dos sitios (FTP 1 y FTP 2); la Cuenca Pescadero con tres sitios (CP 1, CP 2 y CP 3); la Dorsal de Alarcón (DA) con un sitio y finalmente dos sitios de las zonas mínimas de oxígeno (ZMO 1 y ZMO2).

Por otra parte, la diversidad de hongos en los subsistemas hidrotermales analizados la Dorsal de Alarcón (DA) exhibió siete OTUs con diez aislados de 19 OTUs totales encontradas en todos los sitios. La Cuenca Pescadero 2 (CP2) presentó tres OTUs con tres aislados, de la Cuenca Pescadero 3 (CP3) se obtuvieron cuatro OTUs con cinco aislados; no obstante, de la cuenca Pescadero 1 (CP1) no se obtuvieron aislados. En la Falla Transformante Pescadero 2 (FTP2) se presentaron tres OTUs con un total de 3 aislados; mientras que en la Falla Transformante 1 (FTP 1) presentaron dos OTUs de dos cepas sin compartir OTUs con el otro sitio evaluado en la Falla Transformante. En la zona mínima de oxígeno 1 (ZMO1) no se recuperó ningún aislado mientras que en la zona mini de oxígeno 2 (ZMO2) se encontraron dos OTUs con tres aislados (**Fig. 9**).

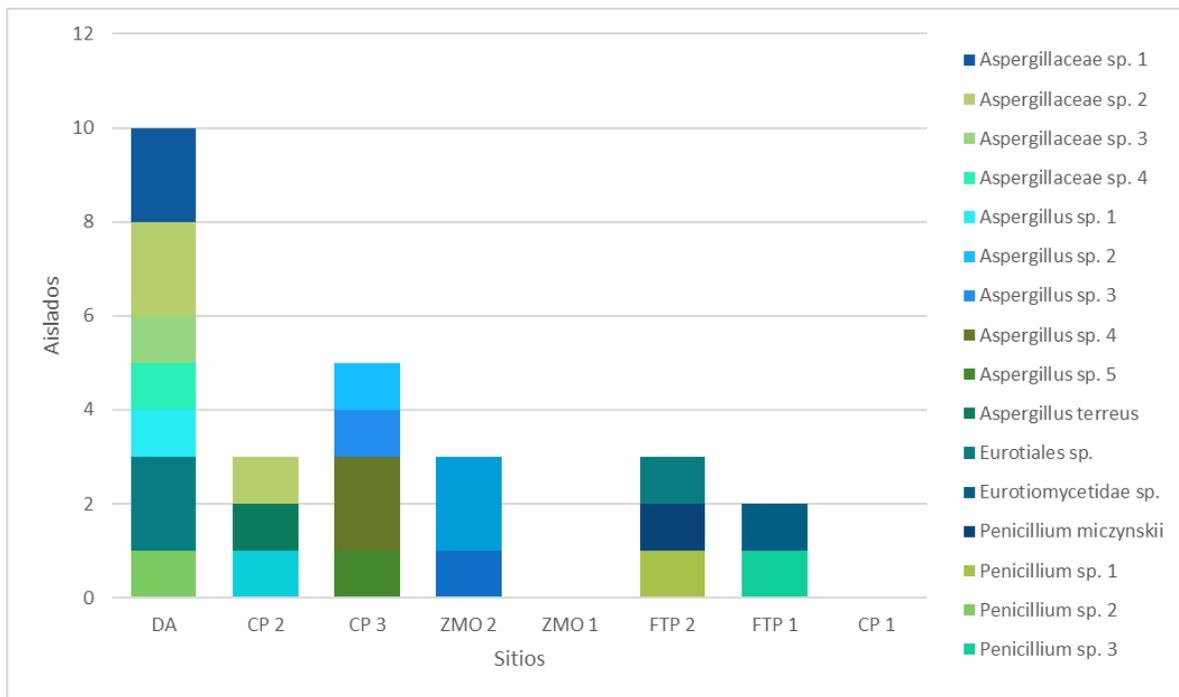


Figura 9. Se muestran las OTUs obtenidas para hongos por sitio de estudio y la cantidad de aislados por OTU. Los sitios se encuentran señalados como la Falla Transformante Pescadero con dos sitios (FTP 1 y FTP 2); la Cuenca Pescadero con tres sitios (CP 1, CP 2 y CP 3); la Dorsal de Alarcón (DA) con un sitio y finalmente dos sitios de las zonas mínimas de oxígeno (ZMO 1 y ZMO2).

Diversidad microbiana en la zona mínima de oxígeno

En bacterias, dos de los organismos seleccionados para la identificación provienen de las zonas mínimas de oxígeno, y fueron identificados como *Bacillus* sp. 4. Por su parte los micromicetes aislados e identificados fueron tres: *Sordariales* sp. 1 (dos aislados) y *Sordariales* sp. 2 (un aislado) (**Tabla 3, Tabla 4**).

Diversidad microbiana en Dorsal de Alarcón

Las especies de bacterias encontradas en este subsistema corresponden a diez cepas, de las cuales obtuvimos una cepa de *Massilia* sp.; cuatro cepas de *Klebsiella* sp. y cinco cepas del género *Bacillus*, identificados como: *Bacillus* sp. 2, *Bacillus* sp. 3, *Bacillus* sp. 5 y dos cepas de *Bacillus* sp. 10 (**Tabla 3**).

En cuanto a hongos obtuvimos 9 aislados correspondientes a un organismo del género *Penicillium* (*Penicillium* sp. 2), dos aislados del orden *Eurotiales* (*Eurotiales* sp.), cinco aislados de la familia *Aspergillaceae* de los cuales se identificaron dos aislados de *Aspergillaceae* sp. 1, dos de *Aspergillaceae* sp. 2 y uno de *Aspergillaceae* sp. 3. Además de un organismo del género *Aspergillus* identificado como: *Aspergillus* sp. 1 (**Tabla 4**).

En algunos casos (*Sordariales* sp. y *Pleosporales* sp.) no obtuvimos la resolución taxonómica suficiente para la identificación a un nivel especie. Esto probablemente se deba a la naturaleza de las muestras, ya que al ser organismos provenientes de sistemas extremos inexplorados como lo son las zonas mínimas de oxígeno y los sistemas hidrotermales, las bases de datos no cuentan con secuencias representativas para su identificación (**Tabla 4**).

Diversidad microbiana en la Cuenca Pescadero

En la Cuenca Pescadero se identificaron seis organismos correspondientes al género *Bacillus* los cuales se dos son cepas de *Bacillus* sp. 2, una de *Bacillus* sp. 4, una de *Bacillus* sp. 7 y dos de *Bacillus* sp. 10 (**Tabla 3**). En

hongos se encontraron ocho aislados de los cuales uno pertenece a la familia *Aspergillaceae* (*Aspergillaceae* sp. 2), cinco pertenecen al género *Aspergillus* con un aislado de *Aspergillus* sp. 2, un aislado de *Aspergillus* sp. 3, dos aislados de *Aspergillus* sp. 4 y un aislado de *Aspergillus* sp. 5. También se logró identificar a nivel de especie un aislado de *Aspergillus terreus*. Además, se encontró a un organismo del orden de *Pleosporales* (*Pleosporales* sp) (**Tabla 4**).

Diversidad microbiana en Falla Transformante Pescadero

En este subsistema hidrotermal se identificaron un total de 25 organismos de los cuales el género *Bacillus* fue el género dominante con 18 aislados: uno de *Bacillus* sp. 1, uno de *Bacillus* sp. 2, dos de *Bacillus* sp. 3, cuatro aislados de *Bacillus* sp. 4, tres de *Bacillus* sp. 5, Uno de *Bacillus* sp. 6, uno de *Bacillus* sp. 8 y cinco de *Bacillus* sp. 10. También fueron identificados como: *Paenibacillus* sp. 1, *Paenibacillus* sp. 2 *Paenibacillus* sp. 3, *Paenibacillus* sp. 4 y *Paenibacillus* sp. 5. Además, se identificaron dos aislados del género *Pseudomonas* (*Pseudomonas* sp.) (**Tabla 3**).

En cuanto a hongos, se identificaron tres OTUs del género *Penicillium*: *Penicillium miczynskii*, *Penicillium* sp. 1 y *Penicillium* sp. 3. Además de un organismo de la familia *Aspergillaceae* sp. 4 y dos de la subclase Eurotiomycetes y el orden *Eurotiales* (*Eurotiomycetidae* sp. y *Eurotiales* sp.) (**Tabla 4**).

Tabla 3. Bacterias identificadas por sitio de estudio.

OTU	Cepa	Identidad	Localidad	Sitio
3	5.9	<i>Bacillus</i> sp. 1	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
4	5.51	<i>Massilia</i> sp.	Alarcon Basin	Ventila alta temperatura
7	5.00	<i>Pseudomonas</i> sp.	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
7	5.06	<i>Pseudomonas</i> sp.	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
10	1.11	<i>Bacillus</i> sp. 2	Pescadero Basin	Ventila alta temperatura
10	1.12	<i>Bacillus</i> sp. 2	Pescadero Basin	Ventila alta temperatura
10	4.73	<i>Bacillus</i> sp. 2	Alarcon Basin	Ventila alta temperatura
10	7.1	<i>Bacillus</i> sp. 2	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura

11	3.9	<i>Bacillus</i> sp. 3	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
11	5.98	<i>Bacillus</i> sp. 3	Alarcon Basin	Ventila alta temperatura
12	5.57	<i>Klebsiella</i> sp.	Alarcon Basin	Ventila alta temperatura
12	6.08	<i>Klebsiella</i> sp.	Alarcon Basin	Ventila alta temperatura
12	6.18	<i>Klebsiella</i> sp.	Alarcon Basin	Ventila alta temperatura
12	6.19	<i>Klebsiella</i> sp.	Alarcon Basin	Ventila alta temperatura
14	1.19	<i>Bacillus</i> sp. 4	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
14	5.78	<i>Bacillus</i> sp. 4	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
14	6.27	<i>Bacillus</i> sp. 4	Alfonso Basin	Zona mínima de oxígeno
14	6.29	<i>Bacillus</i> sp. 4	Alfonso Basin	Zona mínima de oxígeno
14	3.17.2	<i>Bacillus</i> sp. 4	Pescadero Basin (sur)	Ventila alta temperatura
14	3.3.1	<i>Bacillus</i> sp. 4	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
14	3.7.1	<i>Bacillus</i> sp. 4	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
19	2.9	<i>Paenibacillus</i> sp. 1	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
20	5.08	<i>Paenibacillus</i> sp. 2	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
21	2.5	<i>Paenibacillus</i> sp. 3	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
22	2.7	<i>Paenibacillus</i> sp. 4	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
23	3.19	<i>Paenibacillus</i> sp. 5	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
25	1.20	<i>Bacillus</i> sp. 5	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
25	1.9	<i>Bacillus</i> sp. 5	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
25	4.5	<i>Bacillus</i> sp. 5	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
25	5.97	<i>Bacillus</i> sp. 5	Alarcon Basin	Ventila alta temperatura
26	2.3	<i>Bacillus</i> sp. 6	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
32	1.13	<i>Bacillus</i> sp. 7	Pescadero Basin	Ventila alta temperatura
38	4.39	<i>Bacillus</i> sp. 8	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
41	1.14	<i>Bacillus</i> sp. 10	Pescadero Basin	Ventila alta temperatura
41	2.1	<i>Bacillus</i> sp. 10	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
41	3.7	<i>Bacillus</i> sp. 10	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
41	4.35	<i>Bacillus</i> sp. 10	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
41	5.14	<i>Bacillus</i> sp. 10	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
41	5.15	<i>Bacillus</i> sp. 10	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
41	5.58	<i>Bacillus</i> sp. 10	Alarcon Basin	Ventila alta temperatura
41	7.4	<i>Bacillus</i> sp. 10	Pescadero Transform Fault	Ventila baja temperatura
41	9.4	<i>Bacillus</i> sp. 10	Alarcon Basin	Ventila alta temperatura

Tabla 4. Hongos identificados por sitio de estudio.

Aislado	Identificación	Localidad	Sitio
A	<i>Aspergillus</i> sp. 1	Dorsal de Alarcón	Ventila alta temperatura
G	<i>Aspergillaceae</i> sp. 1	Dorsal de Alarcón	Ventila alta temperatura
H	<i>Aspergillaceae</i> sp. 2	Dorsal de Alarcón	Ventila alta temperatura
N	<i>Aspergillaceae</i> sp. 1	Dorsal de Alarcón	Ventila alta temperatura
P	<i>Penicillium</i> sp. 2	Dorsal de Alarcón	Ventila alta temperatura
Q	<i>Aspergillaceae</i> sp. 3	Dorsal de Alarcón	Ventila alta temperatura
R	<i>Eurotiales</i> sp.	Dorsal de Alarcón	Ventila alta temperatura
T	<i>Eurotiales</i> sp.	Dorsal de Alarcón	Ventila alta temperatura
X	<i>Aspergillaceae</i> sp. 2	Dorsal de Alarcón	Ventila alta temperatura
51-A	<i>Sordariales</i> sp. 1	Cuenca Alfonso	Zona mínima de oxígeno
B	<i>Sordariales</i> sp. 1	Cuenca Alfonso	Zona mínima de oxígeno
C	<i>Sordariales</i> sp. 2	Cuenca Alfonso	Zona mínima de oxígeno
43-B	<i>Aspergillus terreus</i>	Cuenca Pescadero	Ventila alta temperatura
D	<i>Pleosporales</i> sp.	Cuenca Pescadero	Ventila alta temperatura
S	<i>Aspergillaceae</i> sp. 2	Cuenca Pescadero	Ventila alta temperatura
J	<i>Aspergillus</i> sp. 2	Cuenca Pescadero (sur)	Ventila alta temperatura
K	<i>Aspergillus</i> sp. 3	Cuenca Pescadero (sur)	Ventila alta temperatura
K3	<i>Aspergillus</i> sp. 4	Cuenca Pescadero (sur)	Ventila alta temperatura
L	<i>Aspergillus</i> sp. 4	Cuenca Pescadero (sur)	Ventila alta temperatura
L2	<i>Aspergillus</i> sp. 5	Cuenca Pescadero (sur)	Ventila alta temperatura
48-B	<i>Penicillium miczynskii</i>	Falla Transformante Pescadero	Ventila baja temperatura
I	<i>Eurotiales</i> sp.	Falla Transformante Pescadero	Ventila baja temperatura
M	<i>Penicillium</i> sp. 1	Falla Transformante Pescadero	Ventila baja temperatura
O	Eurotiomycetidae sp.	Falla Transformante Pescadero	Ventila baja temperatura
U	<i>Penicillium</i> sp. 3	Falla Transformante Pescadero	Ventila baja temperatura
W	<i>Aspergillaceae</i> sp. 4	Falla Transformante Pescadero	Ventila baja temperatura

7.2. Bioensayos de interacción

7.2.1 Organismos selectos

A continuación, se presenta la identidad de los microorganismos seleccionados (seis especies bacterianas y cuatro especies fúngicas) para los bioensayos de interacción *in vitro*.

Bacterias

Seis cepas de bacterias fueron seleccionadas (con base a observaciones de interacción aparente en co-cultivos) para los bioensayos de interacciones entre los que se encuentran una especie del género *Massilia*, tres especies del género *Bacillus* y dos organismos que no se logró identificar (Bacteria sp. 1 y Bacteria sp. 2) (**Fig. 10**).

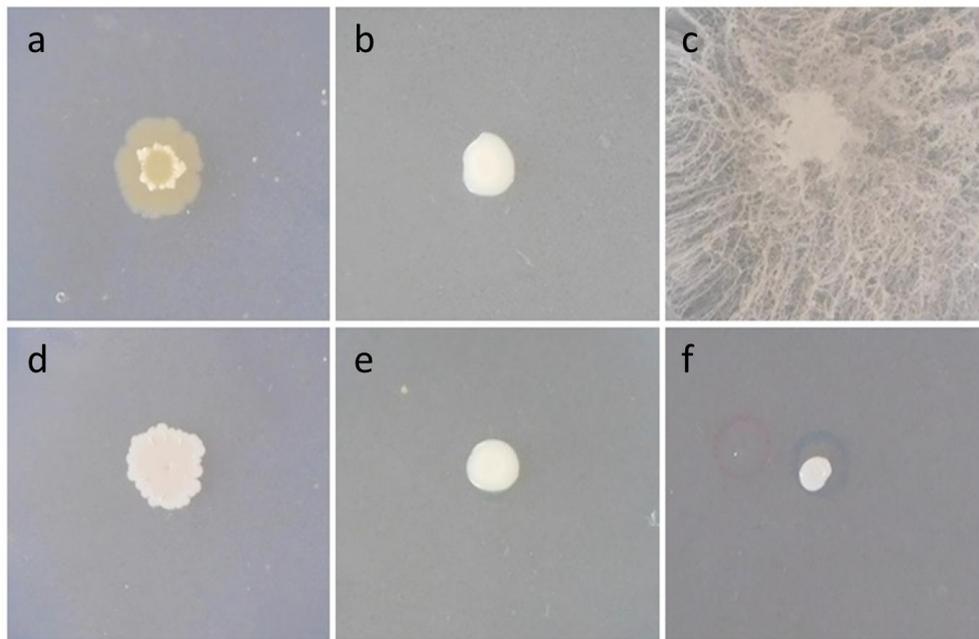


Figura 10. Aislados bacterianos seleccionados para los bioensayos. a) *Bacillus* sp. 2; b) *Massilia* sp.; c) *Bacillus* sp. 3; d) *Bacillus* sp. 10; e) Bacteria sp. 1; f). Bacteria sp. 2

1. *Massilia* sp.

Dominio: Bacteria (Woese et al. 1990)

Phylum: Proteobacteria (Stackebrandt et al. 1988)

Clase: Betaproteobacteria (Garrity et al. 2006 emend. Boden et al. 2017)

Orden: Burkholderiales (Garrity et al. 2006)

Familia: Oxalobacteraceae (Garrity et al. 2006)

Género: *Massilia* (La Scola et al. 2000 emend. Singh et al. 2015)

Descripción: Bacteria Gram negativa que no forma esporas y posee forma de bacilo móvil ($1.0 \times 3.0 \mu\text{m}$). Aerobio estricto, catalasa positiva y oxidasa negativa. Crece en 3% NaCl. Produce arginina dihidrolasa y urea. Hidroliza esculina y almidón. % G + C de ADN es: 64 ± 1.8 (HPLC) (Whitman, 2015).

Especie Tipo: *Massilia timonae* La Scola, Birtles, Mallet and Raoult 2000, 423.

Etimología: *Mas.sil' i.a.* L. n. *Massilia* nombre en latín de Marsella, France.

Descripción morfológica de la colonia: Colonia de forma irregular con elevación convexa y margen entero. Presenta un color blanco con consistencia viscosa y superficie brillante. El área de la colonia en medio marino presenta crecimiento a las 24h de 9.43 mm^2 , al día siete de 14.71 mm^2 , al día 14 de 26.28 mm^2 y al día 20 de 47.34 mm^2 . No presenta pigmentación.

2. *Bacillus* sp. 3

Dominio: Bacteria (Woese et al. 1990)

Phylum: Firmicutes (corrig. Gibbons and Murray 1978)

Clase: Bacilli (Ludwig et al. 2010)

Orden: Bacillales (Prevot 1953)

Familia: Bacillaceae (Fischer 1895)

Género: *Bacillus* (Cohn 1872)

Descripción: Células en forma de bastón, rectas o ligeramente curvadas, que se presentan solas y en pares, algunas en cadenas, y ocasionalmente como filamentos largos. Producen endosporas, no más de una por célula; Estas esporas son muy resistentes a muchas condiciones adversas. Gram-positivas (o Gram-positivas solo en las primeras etapas de crecimiento), o Gram-negativas. Movilidad por medio de flagelos o sin movilidad. Aerobios o anaerobios facultativos, pero algunas especies se describen como estrictamente anaeróbicas. Se exhibe una amplia diversidad de habilidades fisiológicas, que van desde psicrófilas a termófilas, y acidófilas a alcalifílicas; algunas cepas son tolerantes a la sal y otras son halófilas. La catalasa es producida por la mayoría de las especies. Oxidasa positiva o negativa (Whitman, 2015).

Especie Tipo: *Bacillus subtilis* Cohn 1872, 174AL.

Etimología: *Ba.cil'lus*. N.L. masc. n. Bacillus: en forma de bastón.

Descripción morfológica de la colonia: Forma de la colonia rizoide, elevada y de margen filamentoso. Presenta un color blanco de consistencia dura y rugosa. El crecimiento en área por día en medio de cultivo marino es de 64.76mm² a las 24h, a los siete días de 176.84mm², a los 14 de 4630.27mm² y a los 20 de 6817.59mm². No presenta pigmentación.

Bacillus sp. 2

Dominio: Bacteria (Woese et al. 1990)

Phylum: Firmicutes (corrig. Gibbons and Murray 1978)

Clase: Bacilli (Ludwig et al. 2010)

Orden: Bacillales (Prevot 1953)

Familia: Bacillaceae (Fischer 1895)

Género: *Bacillus* (Cohn 1872)

Descripción: Células en forma de bastón, rectas o ligeramente curvadas, que se presentan solas y en pares, algunas en cadenas, y ocasionalmente como filamentos largos. Producen endosporas, no más de una por célula; Estas esporas son muy resistentes a muchas condiciones adversas. Gram-positivas (o Gram-positivas solo en las primeras etapas de crecimiento), o Gram-negativas. Movilidad por medio de flagelos o sin movilidad. Aerobios o anaerobios facultativos, pero algunas especies se describen como estrictamente anaeróbicas. Se exhibe una amplia diversidad de habilidades fisiológicas, que van desde psicrófilas a termófilas, y acidófilas a alcalifílicas; algunas cepas son tolerantes a la sal y otras son halófilas. La catalasa es producida por la mayoría de las especies. Oxidasa positiva o negativa (Whitman, 2015).

Especie Tipo: *Bacillus subtilis* Cohn 1872, 174AL.

Etimología: *Ba.cil'lus*. N.L. masc. n. Bacillus: en forma de bastón.

Descripción morfológica de la colonia: De forma irregular, elevación umbilicada y margen lobulado. Presenta color amarillo cremoso con superficie dura y brillante. El crecimiento en área por día en medio marino a las 24h es de 17.15mm², al día siete de 21.82mm², al día 14 de 58.39mm² y al día 20 de 144.15mm². No presenta pigmentación.

Bacillus sp. 10

Dominio: Bacteria (Woese et al. 1990)

Phylum: Firmicutes (corrig. Gibbons and Murray 1978)

Clase: Bacilli (Ludwig et al. 2010)

Orden: Bacillales (Prevot 1953)

Familia: Bacillaceae (Fischer 1895)

Género: *Bacillus* (Cohn 1872)

Descripción: Células en forma de bastón, rectas o ligeramente curvadas, que se presentan solas y en pares, algunas en cadenas, y ocasionalmente como filamentos largos. Producen endosporas, no más de una por célula; Estas esporas son muy resistentes a muchas condiciones adversas. Gram-positivas (o Gram-positivas solo en las primeras etapas de crecimiento), o Gram-negativas. Movilidad por medio de flagelos o sin movilidad. Aerobios o anaerobios facultativos, pero algunas especies se describen como estrictamente anaeróbicas. Se exhibe una amplia diversidad de habilidades fisiológicas, que van desde psicrófilas a termófilas, y acidófilas a alcalifílicas; algunas cepas son tolerantes a la sal y otras son halófilas. La catalasa es producida por la mayoría de las especies. Oxidasa positiva o negativa (Whitman, 2015).

Especie Tipo: *Bacillus subtilis* Cohn 1872, 174AL.

Etimología: *Ba.cil'lus*. N.L. masc. n. Bacillus: en forma de bastón.

Descripción morfológica de la colonia: Presenta forma irregular con elevación plana y de margen ondulado; color blanco con consistencia friable y superficie lisa. El área de la colonia en medio marino presenta crecimiento a las 24h de 26.35mm², al día siete de 37.70mm², al día 14 de 68.71mm² y al día 20 de 100.38mm². No presenta pigmentación.

Hongos

Cuatro especies de ascomicetes fueron seleccionados para los bioensayos de interacciones entre los que se encuentran una especie de la familia *Aspergillaceae*, una especie del género *Penicillium* y dos especies del orden *Sordariales* (**Fig. 11**).

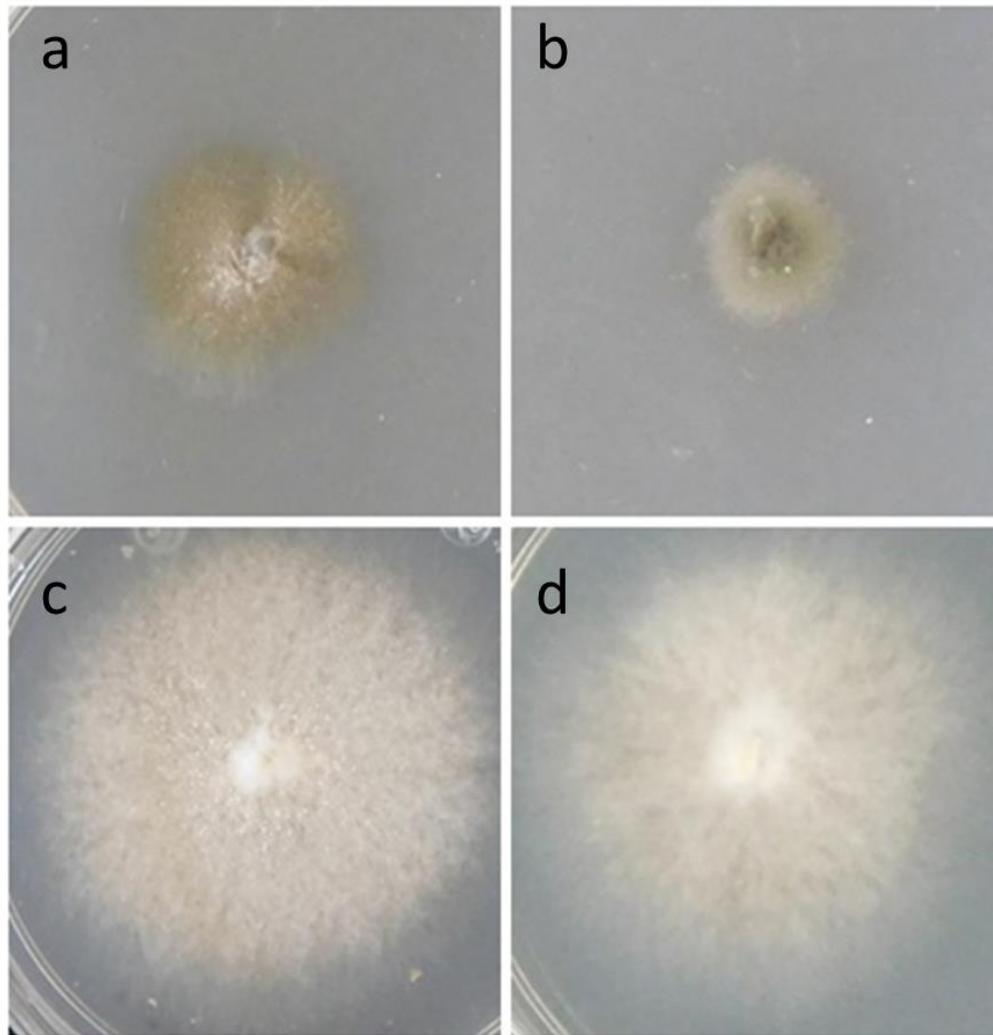


Figura 11. Aislados fúngicos seleccionados para los bioensayos. a) *Sordariales* sp. 1 genotipo 1; b) *Sordariales* sp. 1 genotipo 2; c) *Aspergillaceae* sp. 4; d) *Penicillium* sp. 2.

1. *Aspergillaceae* sp. 4

Dominio: Eukarya (Woese et al. 1990)

Reino: Fungi (Bartling 1830)

Phylum: Ascomycota (Caval.-Sm. 1998)

Clase: Eurotiomycetes (O.E. Erikss. & Winka 1997)

Orden: *Eurotiales* (G.W. Martin ex Benny & Kimbr. 1980)

Familia: *Aspergillaceae* (Link 1826)

Descripción: Producción de ascas dentro de cleistotecios o de estroma o rodeados por las células de Hülle. En su mayoría poseen ascosporas elipsoidales aplanadas con un surco o abertura. Los conidios tienen forma principalmente de frasco o fiálides cilíndricas.

Especie Tipo: *Aspergillus glaucus* (L.) Link 1809.

Etimología: Lat. *aspergillo*: isopo, rociador.

Descripción morfológica de la colonia: Colonia de forma circular con elevación convexa y margen filamentoso; color blanco de la colonia con textura algodonosa. El crecimiento en área por día en medio marino a las 24h es de 9.21mm², al día siete de 16.84mm², al día 14 de 406.13mm² y al día 20 de 3408.46mm². Pigmentación posterior ligeramente rosa con amarillo.

2. *Sordariales* sp. 1 genotipo 2

Dominio: Eukarya (Woese et al. 1990)

Reino: Fungi (Bartling 1830)

Phylum: Ascomycota (Caval.-Sm. 1998)

Clase: Sordariomycetes (O.E. Erikss. & Winka 1997)

Orden: *Sordariales* (Chadef. ex D. Hawksw. & O.E. Erikss. 1986)

Descripción: Formación poco frecuente de estromas, peritecio o cleistotecio; con pared gruesa o delgada; tejido inter-ascal no conspicuo o nulo. Asca cilíndrica o clavada, persistente o evanescente, no fisitunicado; ascosporas con la presencia de por lo menos una célula oscura con un poro germinal, algunas veces con apéndices o recubrimiento gelatinosos. Estados asexuales usualmente ausentes. Saprobios en madera podrida y suelo, coprófilos, algunos fungícolas, muchos celulolíticos.

Especie Tipo: *Sordaria fimicola* (Roberge ex Desm.) Ces. & De Not., Comm. Soc. crittog. Ital. 1(fasc. 4): 226 (1863).

Etimología: Lat. *sordes*, *sordidus*: de aspecto sucio, barroso, manchado. Sufijo *-aria* de posesión.

Descripción morfológica de la colonia: Colonia de forma irregular con elevación convexa y margen entero; color verde oscuro amarillento con margen blanco y de textura granulosa. El área de la colonia en medio marino presenta crecimiento a las 24h de 9.21mm², al día siete de 16.84mm², al día 14 de 406.13mm² y al día 20 de 3408.46mm². No presenta pigmentación al anverso de la colonia.

3. *Sordariales* sp. 2 genotipo 1

Dominio: Eukarya (Woese et al. 1990)

Reino: Fungi (Bartling 1830)

Phylum: Ascomycota (Caval.-Sm. 1998)

Clase: Sordariomycetes (O.E. Erikss. & Winka 1997)

Orden: *Sordariales* (Chadef. ex D. Hawksw. & O.E. Erikss. 1986)

Descripción: Formación poco frecuente de estromas, peritecio o cleistotecio, con pared gruesa o delgada; tejido inter-ascal no conspicuo o nulo; asca cilíndrica o clavada, persistente o evanescente, no fisitunicado. Ascosporas con la presencia de por lo menos una célula oscura con un poro germinal, algunas veces con apéndices o recubrimiento gelatinosos. Estados asexuales usualmente ausentes. Saprobios en madera podrida y suelo, coprófilos, algunos fungícolas, muchos celulolíticos.

Especie Tipo: *Sordaria fimicola* (Roberge ex Desm.) Ces. & De Not., Comm. Soc. crittog. Ital. 1(fasc. 4): 226 (1863).

Etimología: Lat. *sordes*, *sordidus*: de aspecto sucio, barroso, manchado. Sufijo *-aria* de posesión.

Descripción morfológica de la colonia: Forma circular con elevación convexa y margen filamentosos; color pardo con textura vellosa. El crecimiento en área por día en medio marino presenta crecimiento a las 24h de 15.22mm², al día siete de 21.73mm², al día 14 de 101.17mm² y al día 20 de 442.27mm². No presenta pigmentación al anverso de la colonia.

4. *Penicillium* sp. 2

Dominio: Eukarya (Woese et al. 1990)

Reino: Fungi (Bartling 1830)

Phylum: Ascomycota (Caval.-Sm. 1998)

Clase: Eurotiomycetes (O.E. Erikss. & Winka 1997)

Orden: *Eurotiales* (G.W. Martin ex Benny & Kimbr. 1980)

Familia: Trichocomaceae (E. Fisch. 1897)

Género: *Penicillium* (Link 1809)

Descripción: Conidióforos macronematosos peniciliados, las ramas terminales presentan fiálides verticiliadas, mientras que las ramas penúltimas finalizan con metulas. Las fiálides forman cadenas basipetalas de conidios secos que usualmente forman su ornamentación superficial en la fase de maduración después de la separación completa de células conidiogenas.

Especie Tipo: *Penicillium expansum* Link ex Gray (5029).

Etimología: Lat. *penicillus* que significa pequeño cepillo Link, 1809 .

Descripción morfológica de la colonia: Colonia de forma circular con elevación convexa y margen entero; micelio color blanco con textura algodonosa. Presenta un crecimiento en área en medio marino a las 24h de inoculación de 14.19mm², al día 7 de 29.36mm², al día 14 de 403mm² y al día 20 de 2138.42mm². No presenta pigmentación en el anverso de la colonia.

7.3 Análisis estadísticos

7.3.1 Índices de interacción

Las interacciones fueron evaluadas a partir de seis índices de crecimiento con las colonias de microorganismos (bacterias y hongos) en monocultivo y co-cultivo. El índice que presentó un mayor peso fue el índice de crecimiento en interacción. Ya que este índice calculó la diferencia de crecimiento o producción de biomasa de los organismos solos y creciendo en co-cultivo. Por lo tanto, de forma indirecta se evaluó el efecto de la interacción en la adecuación de ambos organismos. Los demás índices, aunque también se calcularon a partir del crecimiento del organismo, la información que se obtuvo fue para evaluar y rectificar el tipo de interacción; estos índices analizaron el comportamiento espacial de la colonia cuando se encuentra el organismo en un co-cultivo.

El resultado de cada índice determinó si el organismo tuvo una respuesta positiva, negativa o neutra en la interacción. Por consiguiente, al comparar estas respuestas entre los organismos de cada co-cultivo, se pudo clasificar el tipo de interacción entre: 1) cooperación (+/+): ambos organismos presentaron valores positivos; 2) comensalismo (+/0): uno de los organismos presentó un valor positivo, mientras que el otro permaneció neutral; 3) antagonismo (+/-): un organismo presentó valor positivo y el otro negativo ante la interacción 4) amensalismo (-/0): uno de los organismos obtuvo una respuesta negativa a la interacción, mientras que el otro organismo permaneció neutral; 5) competencia pasiva (-/-): los dos organismos tuvieron respuestas negativas y efectos perjudiciales similares ante la interacción; 6) competencia activa (-/--): ambos organismos presentaron una respuesta negativa, no obstante uno de ellos exhibió un efecto perjudicial mayor al del otro organismo; y 7) neutralismo (0/0): los organismos no son afectados por el co-cultivo.

La comparación y clasificación de la respuesta de cada índice a lo largo del experimento se presentan en las tablas a continuación para hongos (**Tabla 5**), interacciones entre hongos y bacterias (**Tabla 6**) y para bacterias (**Tabla 7**).

Tabla 5. Interacciones entre hongos días 7, 14 y 20. En donde cada color representa un tipo de interacción: verde cooperación (+/+), verde claro comensalismo (+/0), naranja antagonismo (+/-), amarillo amensalismo (-/0), rojo claro competencia pasiva (-/-), rojo oscuro competencia activa (-/-) y blanco neutralismo (0/0).

Día 7	<i>Aspergillaceae</i> sp. 4	<i>Penicillium</i> sp. 2	<i>Sordariales</i> sp. 2 genotipo 1	<i>Sordariales</i> sp. 1 genotipo 2
<i>Aspergillaceae</i> sp. 4	+/-			
<i>Penicillium</i> sp. 2	+/-	+/-		
<i>Sordariales</i> sp. 2 genotipo 1	+/+	+/-	-/-	
<i>Sordariales</i> sp. 1 genotipo 2	0/-	+/-	+/-	+/+

Día 14	<i>Aspergillaceae</i> sp. 4	<i>Penicillium</i> sp. 2	<i>Sordariales</i> sp. 2 genotipo 1	<i>Sordariales</i> sp. 1 genotipo 2
<i>Aspergillaceae</i> sp. 4	-/-			
<i>Penicillium</i> sp. 2	-/-	-/-		
<i>Sordariales</i> sp. 2 genotipo 1	-/-	-/-	+/+	
<i>Sordariales</i> sp. 1 genotipo 2	0/-	+/-	+/-	+/+

Día 20	<i>Aspergillaceae</i> sp. 4	<i>Penicillium</i> sp. 2	<i>Sordariales</i> sp. 2 genotipo 1	<i>Sordariales</i> sp. 1 genotipo 2
<i>Aspergillaceae</i> sp. 4	-/-			
<i>Penicillium</i> sp. 2	-/-	-/-		
<i>Sordariales</i> sp. 2 genotipo 1	0/-	-/-	-/-	
<i>Sordariales</i> sp. 1 genotipo 2	-/- -	-/- -	+/-	0/0

Tabla 6. Interacciones entre hongos y bacterias días 7, 14 y 20. En donde cada color representa un tipo de interacción: verde cooperación (+/+), verde claro comensalismo (+/0), naranja antagonismo (+/-), amarillo amensalismo (-/0), rojo claro competencia pasiva (-/-), rojo oscuro competencia activa (-/-) y blanco neutralismo (0/0).

Día 7	<i>Bacillus</i> sp. 2	<i>Massilia</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. 3	<i>Bacillus</i> sp. 10	Bacteria sp. 1
<i>Aspergillaceae</i> sp. 4	0/-	-/-	+/-	+/-	+/+
<i>Penicillium</i> sp. 2	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-
<i>Sordariales</i> sp. 2 genotipo 1	-/-	-/-	+/-	-/-	+/+
<i>Sordariales</i> sp. 1 genotipo 2	+/-	-/-	+/-	+/-	0/-

Día 14	<i>Bacillus</i> sp. 2	<i>Massilia</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. 3	<i>Bacillus</i> sp. 10	Bacteria sp. 1
<i>Aspergillaceae</i> sp. 4	+/-	+/+	+/-	+/+	+/-
<i>Penicillium</i> sp. 2	-/-	+/-	+/-	+/+	+/+
<i>Sordariales</i> sp. 2 genotipo 1	0/-	+/+	+/-	+/+	+/+
<i>Sordariales</i> sp. 1 genotipo 2	-/- -	+/-	+/-	+/-	0/-

Día 20	<i>Bacillus</i> sp. 2	<i>Massilia</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. 3	<i>Bacillus</i> sp. 10	Bacteria sp. 1
<i>Aspergillaceae</i> sp. 4	+/-	+/-	0/-	+/-	0/-
<i>Penicillium</i> sp. 2	-/-	-/-	0/-	+/0	0/-
<i>Sordariales</i> sp. 2 genotipo 1	-/-	+/+	+/-	+/-	+/0
<i>Sordariales</i> sp. 1 genotipo 2	-/-	+/-	0/-	+/-	+/-

Tabla 7. Interacciones entre bacterias días 5, 9 y 11. En donde cada color representa un tipo de interacción: verde cooperación (+/+), verde claro comensalismo (+/0), naranja antagonismo (+/-), amarillo amensalismo (-/0), rojo claro competencia pasiva (-/-), rojo oscuro competencia activa (-/-) y blanco neutralismo (0/0).

Día 5	<i>Bacillus</i> sp. 2	<i>Massilia</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. 3	Bacteria sp. 2	<i>Bacillus</i> sp. 10	Bacteria sp. 1
<i>Bacillus</i> sp. 2	-/-					
<i>Massilia</i> sp.	+/-	-/- -				
<i>Bacillus</i> sp. 3	+/-	+/-	+/+			
Bacteria sp. 2	+/-	-/-	-/-	+/+		
<i>Bacillus</i> sp. 10	-/- -	-/-	-/- -	-/-	-/-	
Bacteria sp. 1	+/-	-/-	+/-	+/-	-/- -	+/+

Día 9	<i>Bacillus</i> sp. 2	<i>Massilia</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. 3	Bacteria sp. 2	<i>Bacillus</i> sp. 10	Bacteria sp. 1
<i>Bacillus</i> sp. 2	-/- -					
<i>Massilia</i> sp.	-/-	-/- -				
<i>Bacillus</i> sp. 3	-/- -	+/-	-/- -			
Bacteria sp. 2	+/-	+/-	+/-	-/- -		
<i>Bacillus</i> sp. 10	-/- -	+/-	+/-	0/-	-/-	
Bacteria sp. 1	+/-	-/- -	+/-	0/-	-/-	-/-

Día 11	<i>Bacillus</i> sp. 2	<i>Massilia</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. 3	Bacteria sp. 2	<i>Bacillus</i> sp. 10	Bacteria sp. 1
<i>Bacillus</i> sp. 2	-/-					
<i>Massilia</i> sp.	-/-	-/- -				
<i>Bacillus</i> sp. 3	-/- -	+/-	-/-			
Bacteria sp. 2	+/-	-/- -	+/+	-/-		
<i>Bacillus</i> sp. 10	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	
Bacteria sp. 1	+/+	-/- -	+/-	-/-	-/-	-/-

7.3.2 Resultado de las interacciones pareadas

Hongo – Hongo

El antagonismo y la competencia pasiva fueron las interacciones predominantes en los bioensayos entre micromicetes. No obstante, también se observaron interacciones tales como la cooperación, amensalismo, comensalismo y competencia activa en algunos bioensayos. En el caso de *Aspergillaceae* sp. 4 la interacción predominante durante el experimento fue la competencia pasiva (cinco casos), seguida de amensalismo (tres casos) y de antagonismo (dos casos) y Por su parte *Penicillium* sp. 2 estuvo presente en interacciones como la competencia pasiva (seis casos) y el antagonismo (cinco casos). En *Sordariales* sp. 2 genotipo 1 la interacción predominante fue de competencia pasiva (cinco casos), seguida de antagonismo (cuatro casos) presentándose dos casos de cooperación y uno de amensalismo. Y para finalizar *Sordariales* sp. 2 genotipo 2 se encontró presente en interacciones variadas, siendo el antagonismo la interacción predominante (cinco casos), seguido de cooperación (dos casos), competencia activa (dos casos), amensalismo (dos casos), cabe mencionar que fue el único organismo que presentó un caso de neutralismo.

Bacteria – Bacteria

En los bioensayos entre bacterias la interacción predominante fue de antagonismo, seguido de competencia pasiva y competencia activa. En *Bacillus* sp. 2 la interacción predominante fue de antagonismo (ocho casos) seguido de ambos tipos de competencia activa (5 casos) y pasiva (cuatro casos). Este mismo resultado se presenta tanto en *Massilia* sp. con siete casos de antagonismo, seis casos de competencia activa y cinco casos de competencia pasiva. Por otra parte, *Bacillus* sp. 3 se encontró presente en un mayor número de relaciones antagónicas (diez casos), seguido de competencia activa (cuatro casos), pasiva (dos casos) y de cooperación (dos casos). Las bacterias *Bacteria* sp. 1 y *Bacteria* sp. 2 presentaron predominancia en el antagonismo (seis casos en ambos) y en la competencia pasiva (seis casos en ambos), no obstante, se presentaron casos de cooperación (dos casos en ambos), un caso y dos casos respectivamente de amensalismo y tres casos de

competencia activa por parte de Bacteria sp. 1. En cuanto a *Bacillus* sp. 10 la interacción dominante fue de competencia pasiva con seis casos al igual que el antagonismo.

Hongo – Bacteria

Entre hongos y bacterias la interacción predominante fue de antagonismo seguido de cooperación, competencia pasiva y amensalismo. Por parte de los hongos, con *Aspergillaceae* sp. 4 el antagonismo fue la interacción dominante (ocho casos), seguido del comensalismo (tres casos) y la cooperación (tres casos). *Penicillium* sp. 2 se encontró presente en su mayoría en interacciones de competencia pasiva (seis casos) y de antagonismo (cuatro casos); a diferencia de *Sordariales* sp. 2 genotipo 1 en donde la interacción predominante fue de cooperación (cinco casos), seguido de competencia pasiva (cuatro casos) y antagonismo (cuatro casos). Por otra parte, *Sordariales* sp. 2 genotipo 2 se encontró en su mayoría en interacciones de antagonismo (nueve casos) seguido de pocos ejemplos de competencia pasiva (dos casos) y amensalismo (tres casos).

En cuanto a bacterias la mayoría de las interacciones de *Bacillus* sp. 2 son de competencia pasiva (seis casos), a diferencia de *Bacillus* sp. 3 el cual presenta la mayoría de sus interacciones de antagonismo (ocho casos). Por otra parte, *Massilia* sp. Presenta casi en partes iguales interacciones de antagonismo (cuatro casos), competencia pasiva (cinco casos) y de cooperación (tres casos). A su vez, *Bacillus* sp. 10 posee la mayoría de las interacciones como antagónicas (siete casos) con algunas interacciones de cooperación (tres casos). Finalmente, Bacteria sp. 1 presentó casi en partes iguales interacciones de amensalismo (cuatro casos), antagonismo (tres casos) y de cooperación (cuatro casos).

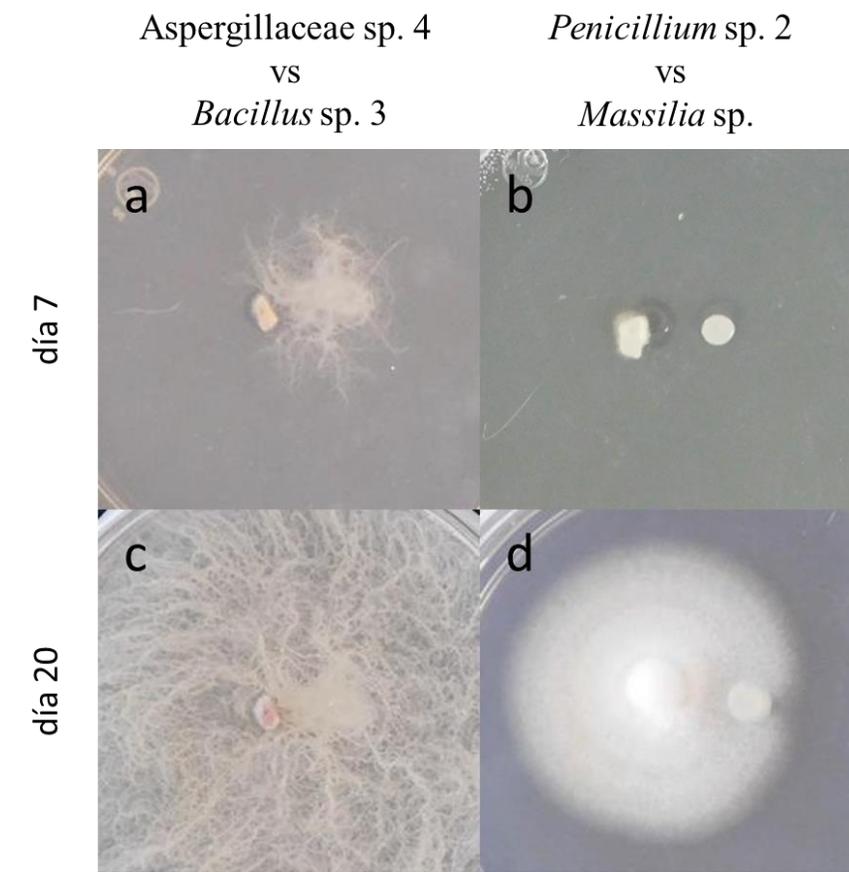


Figura 12. Se presentan dos interacciones entre hongos y bacterias a) y c) interacción entre *Aspergillaceae* sp. 4 y *Bacillus* sp. 3 a los días 7 (antagonismo) y 20 (amensalismo). b y d) interacción entre *Massilia* sp. y *Penicillium* sp. 2 a los días 7 (competencia pasiva) y 20 (competencia pasiva).

7.3.3 Cambios en escala temporal

Hongo – Hongo

La mayoría de las interacciones entre micromicetes tendieron a cambiar de antagonismo, cooperación y comensalismo a competencia pasiva o en algunos casos a competencia activa (**Fig. 12**). En el caso de *Penicillium* sp. 2 todas las interacciones partieron de antagonismo y culminaron en competencia en su mayoría pasiva. En *Aspergillaceae* sp. 4 de igual forma algunas de las interacciones pasaron de antagonismo a competencia pasiva. En *Sordariales* sp. 2 genotipo 1 se observan algunas interacciones que se mantuvieron

constantes durante todo el experimento, así como con *Sordariales* sp. 2 genotipo 2, en donde la mayoría de las interacciones que estableció con los otros micromicetes permanecieron constantes hasta el último día evaluado.

Bacteria – Bacteria

Detectamos interacciones que permanecieron constantes los tres días evaluados del experimento tanto de antagonismo como de competencia activa y competencia pasiva. Durante los primeros días la interacción predominante fue el antagonismo, posteriormente cambió a ser de competencia, aunque existieron casos en los que el patrón fue viceversa. Así mismo, hubo casos que cambiaron de cooperación a competencia pasiva (Bacteria sp. 2 vs Bacteria sp.2; Bacteria sp. 1 vs Bacteria sp. 1), o de competencia pasiva a cooperación (Bacteria sp. 1 vs *Massilia* sp.). De igual forma se presentaron casos de antagonismo que cambió a cooperación en el último día de evaluación, Por ejemplo, Bacteria sp. 2 y *Bacillus* sp. 2. Cabe mencionar que en algunas de las interacciones se observó la persistencia de la interacción desde el segundo día evaluado del experimento, sin embargo, no existió una interacción constante. Finalmente, las interacciones intraespecíficas tendieron a permanecer constantes a lo largo de los días en la mayoría de los organismos evaluados.

Hongo – Bacteria

Entre hongos y bacterias se observaron diferentes patrones de interacción en los bioensayos (**Fig. 13**). Para comenzar, se observó que existen en términos generales dos grupos de organismo: aquellos que tienen la capacidad de establecer interacciones constantes durante todo el experimento, y aquellos que pueden cambiar de interacción continuamente a lo largo de los días. Hay que resaltar que algunas interacciones se mantuvieron los días iniciales o finales del experimento. De forma general se observó que algunas interacciones cambiaron a lo largo de los días iniciando como competencia o amensalismo, seguido de interacciones de cooperación para finalmente terminar en antagonismo o comensalismo. Cabe mencionar que la interacción intermedia de cooperación fue predominante en muchos bioensayos. En este experimento surgieron más casos de amensalismo y comensalismo comparado con los bioensayos entre hongos y bacterias únicamente.

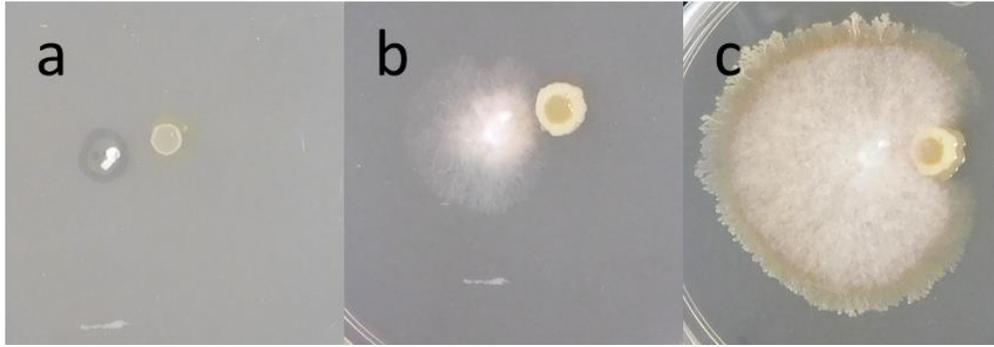


Figura 13. Interacciones entre *Aspergillaceae* sp. 4 y *Bacillus* sp. 2 a lo largo del tiempo. a) interacción de amensalismo al día 7; b) interacción de antagonismo al día 14; c) interacción de antagonismo al día 20, se observa una morfología de crecimiento de la bacteria.

7.3.4 Interacciones a nivel local

No se observó un patrón determinado entre organismos del mismo sitio de estudio. No obstante, cabe resaltar que los miembros de las zonas mínimas de oxígeno normalmente mantuvieron interacciones estables (misma interacción a lo largo del tiempo) durante todo el bioensayo en la mayoría de los casos, sobre todo a nivel intraespecífico.

8. Discusión

8.1 Diversidad microbiana

Se ha mencionado ampliamente en la literatura que las técnicas cultivo dependiente no recuperan el total de la diversidad. Sin embargo, ofrecen una buena aproximación a la diversidad encontrada. Además, presentan diversas ventajas *a posteriori*, como es el caso de este trabajo, donde se evalúan las capacidades ecológicas de los microorganismos, aportando un mayor entendimiento del área de estudio. La presente investigación reporta una diversidad microbiana alta en sistemas hidrotermales al sur del Golfo de California. Esto, con base a estudios cultivo dependientes previos donde se llegan a describir entre 128 y 85 aislados bacterianos (Sun et

al., 2015), y alrededor de 25 aislados fúngicos (Burgaud *et al.*, 2009) a partir de sedimentos del Atlántico y el suroeste del Pacífico.

Es de mencionar que se recuperó un gran número de OTUs (14 en ambos sitios) de los dos sitios evaluados de la Falla Transformante Pescadero. No obstante, entre ambos sitios solo se comparten tres taxa. Esto se puede deber a diferencias micro-ambientales por ejemplo tipo de sustrato y temperatura. En términos de interacciones en este sitio se observó predominantemente antagonismo y competencia, lo cual sugiere que la comunidad microbiana se mantiene estable por medio de este tipo de interacciones que excluyen a organismos exógenos.

Cabe destacar, que en la Falla Transformante Pescadero no se encontraron gran número de taxa fúngicos (cuatro en total) pero sí de bacterias (14 en total). Esto puede ser consecuencia de dos factores: 1) el medio de cultivo en el cual se aislaron no contaba con la fuente de carbono adecuada para su crecimiento, ya que este sitio presenta infiltraciones de hidrocarburos; 2) ya que la diversidad bacteriana en estos subsistemas hidrotermales fue alta, probablemente la diversidad metabólica también lo sea. Al ser las bacterias productores primarios, son las encargadas de hacer disponibles moléculas indispensables para los hongos y al no estar presentes en el medio de cultivo éstos no pudieron proliferar. No obstante, probablemente la primera hipótesis sea la correcta ya que en el bioensayo entre dos organismos de Falla Transformante se presentaron interacciones de antagonismo y no de cooperación, aunque está sola es una interacción entre dos organismos, por lo que se necesitaría realizar más bioensayos y en diferentes condiciones de nutrientes y con diferentes organismos para seleccionar una hipótesis.

En zonas mínimas de oxígeno se obtuvo una baja riqueza y abundancia de taxa microbianos. En bacterias por ejemplo en la ZMO1 no se obtuvieron aislados, mientras que en los demás sitios sólo se recuperaron dos OTU fúngicos. Esto puede ser consecuencia del tipo organismos que se encuentran en el sitio ya que probablemente

la mayoría de ellos sean anaerobios o anaerobios facultativos por lo que no pudieron proliferar en un ambiente con alta presencia de oxígeno.

La mayor abundancia de aislados bacterianos correspondió al género *Bacillus*. Este género se ha descrito que es capaz de formar estructuras celulares altamente resistentes frente a condiciones ambientales desfavorables para la supervivencia del organismo. Esta estructura celular es conocida como espora. La espora es un estado inducido por estrés en donde el organismo se encuentra en dormancia y deshidratado bajo un complejo de capas proteicas externas. Cuando las condiciones ambientales son favorables el organismo es capaz de volverse metabólicamente activo nuevamente (Driks, 2004). En ventilas hidrotermales, se ha reportado su presencia del género *Bacillus* en numerosas ocasiones, obteniendo aislados de los organismos, o registrando su presencia mediante técnicas de nueva secuenciación (Caccamo *et al.*, 2000; Marteinson *et al.*, 1996). Por lo tanto, es posible que el obtener una mayor abundancia del género *Bacillus* se encuentre correlacionado con su capacidad de tener un mecanismo de supervivencia al estrés. Este estado podría ayudar al organismo a adaptarse fácilmente a un ambiente heterogéneo como lo es una ventila hidrotermal.

Adicionalmente algunas especies de este género se han reportado como termotolerantes, así como halotolerantes o inclusive capaces de resistir metales pesados (Caccamo *et al.*, 2000; Llanos *et al.*, 2000; Marteinson *et al.*, 1996; Nicolaus *et al.*, 2000). También se han reportado especies quimiolitótrofas como algunas reductoras de nitratos (Whitman, 2015). Cabe resaltar que todas las condiciones antes mencionadas se encuentran presentes en un ambiente dinámico como lo es un sistema hidrotermal. Consecuentemente, el gran número de aislados obtenidos de este género se podría explicar por sus características y adaptaciones morfológicas (como la formación de esporas), las cuales les confiere ventajas adaptativas frente a otros géneros bacterianos en ambientes extremos como las ventilas hidrotermales.

Las ventilas hidrotermales no solo son un ambiente extremo por las altas temperaturas de los fluidos, sino también por la presencia de compuestos tóxicos como metales pesados en altas concentraciones. El cadmio se

ha reportado que en microorganismos causa inhibición de procesos fisiológicos como el crecimiento, y en metabolismos como la fotosíntesis y la fijación de nitrógeno (Aiking *et al.*, 1984). Sin embargo, se ha reportado que los microorganismos aislados de ventilas hidrotermales son capaces de resistir y acumular altas concentraciones de este metal pesado, el cual transportan a través de la pared celular (Shamim *et al.*, 2012).

Especies como *Pseudomona aeruginosa* y *Klebsiella aerogenes* se han reportado que pueden precipitar y remover el cadmio con metabolismos aeróbicos y anaeróbicos (Trevors *et al.*, 1986; Shamim *et al.*, 2012), lo cual es importante mencionarlo ya que aislamos organismos pertenecientes a estos dos géneros (*Klebsiella* sp. y *Pseudomona* sp.). Aunque estos dos géneros no fueron los más abundantes se encontraron en el subsistema de la Dorsal de Alarcón en donde se han reportado altas concentraciones de diversos metales (Paduan *et al.*, 2018; Clague *et al.*, 2018; Goffredi *et al.*, 2017). Este resultado puede sugerir que fungen un rol importante en este subsistema siendo organismos colonizadores o modeladores del ambiente para organismos susceptibles. Cabe resaltar que el conocer y aislar este tipo de organismos puede ayudar a la investigación de biorremediación en sistemas de minas son un problema ambiental y de salud pública.

Por otra parte, se ha reportado que las especies del género *Massilia* son versátiles y tienen la capacidad de vivir en ambientes extremos altamente contrastantes. Algunas especies se han aislado de núcleos de hielo (Shen *et al.*, 2013), en basaltos de volcanes activos (Medrano-Santillana *et al.*, 2017) y también en ambientes oligotróficos (Kolda *et al.*, 2019). En el trabajo presentado por Kelly y colaboradores (2014) se encontraron especies del género que eran parte en la comunidad microbiana pionera en la colonización del flujo de lava basáltico del volcán Eyjafjallajökull (Islandia). En este estudio se aisló un organismo perteneciente a este género en el subsistema de la dorsal de Alarcón. Por lo tanto, son de resaltar las similitudes entre ambos trabajos en términos del tipo de sustrato en el que estos microorganismos proliferan, puesto que el sustrato en la Dorsal de Alarcón, así como en el volcán, son basaltos y ambos sitios poseen una alta actividad magmática. Por consiguiente, es posible suponer que algunas estos microorganismos poseen la capacidad de tolerar las condiciones dinámicas y heterogéneas de un sistema hidrotermal. Cabe resaltando que este tipo de bacteria no

cuenta con estructuras de resistencia como las esporas, lo cual es sorprendente teniendo en cuenta su plasticidad para vivir en ambientes extremos y su posible capacidad para soportar temperaturas altas.

Otro grupo frecuentemente reportado en ambientes extremos es *Paenibacillus*; un género de bacterias anaerobias facultativas capaces de formar de esporas y producir enzimas para hidrolizar polisacáridos. Se conocen algunas especies termofílicas y halófilas (Bouraoui *et al.*, 2013). En este estudio todos los organismos de este género se aislaron de la Falla Transformante Pescadero, la cual presenta ventilas hidrotermales de baja temperatura. Por lo que es posible suponer que la temperatura de este sistema es una característica ambiental clave para este género. Ya que, aunque posee mecanismos adaptativos al estrés (como las esporas) no se encuentra en todos los sitios de estudio en como es el caso del género *Bacillus*, el cual fue dominante tanto en altas temperaturas como en bajas temperaturas.

En cuanto a los micromicetes, obtuvimos un gran número de aislados del género *Aspergillus* en la Dorsal de Alarcón y la Cuenca Pescadero. Aunque las especies de este género son organismos cosmopolitas que típicamente se conocen de ambientes terrestres, se han reportado también del fondo marino y en sistemas hidrotermales como *The Lost City* y *Rainbow* (Burgaud *et al.*, 2009). Estos dos cuentan con sustratos ricos en calcitas, similares al subsistema hidrotermal de Pescadero. Sin embargo, al obtener aislados de este género en los tres subsistemas hidrotermales evaluados (Cuenca Pescadero, Dorsal de Alarcón y Falla Transformante Pescadero), pareciera que el tipo de sustrato inorgánico no presenta una variable ambiental delimitante para el crecimiento de estos organismos. Por otra parte, al ser organismos cosmopolitas probablemente presenten diferentes mecanismos para sobrevivir condiciones ambientales desfavorables, por lo que es probable que la alta heterogeneidad de las ventilas hidrotermales evaluadas no sea una limitante para su proliferación.

Cabe mencionar que a partir de aislados de *Aspergillus* de sistemas hidrotermales, se han encontrado compuestos importantes para la bioprospección, mediados por la respuesta al estrés por cobalto en los

micromicetes. Esto último abre líneas de investigación interesantes para el estudio detallado de los organismos de fondo del mar y ventilas hidrotermales, que pueden presentar metabolismos únicos y rentables (Chen *et al.*, 2013; Ding *et al.*, 2016).

Otro género cosmopolita es *Penicillium*. Estos organismos han sido repetidamente descritos en diferentes sistemas hidrotermales como lo son el sistema hidrotermal de la Dorsal Índica del Suroeste, y el sistema de la Dorsal Mesoatlántica del Sur (Xu *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2018). Cabe mencionar que estos reportes se limitan a describir la diversidad de hongos en el sitio; actualmente hay pocos trabajos sobre la diversidad funcional de hongos en ecosistemas extremos como lo son los sistemas hidrotermales y las zonas mínimas de oxígeno, por lo cual resulta fundamental entender su rol funcional para poder entender su relación en las redes tróficas con otros organismos de estos ambientes extremos.

Aspergillus terreus es un hongo típicamente cosmopolita con capacidades funcionales destacables, y se le ha encontrado en diferentes ecosistemas tanto acuáticos y terrestres. Destaca por su capacidad para metabolizar nitratos y reciclarlos en amonio y nitritos a través de la oxidación anaeróbica del amonio, así como para almacenar nitrato de manera intracelular (Stief *et al.*, 2014). Stief y colaboradores (2014) lo aislaron de una de zona mínima de oxígeno, pero probablemente se pueda encontrar en diferentes partes del fondo marino. En este estudio se pudo aislar del subsistema hidrotermal de la Cuenca Pescadero en donde probablemente funge un papel importante en los ciclos del nitrógeno en este subsistema pues no se encontraron aislados de la especie en otros sitios evaluados.

8.2 Interacciones microbianas

El uso de los diferentes índices de interacción en el presente trabajo fue importante ya que le dio sustento a su clasificación. Es decir, tener diferentes índices con los cuales se puede comparar la respuesta de crecimiento de

un organismo da mas finura a la selección y el análisis de la interacción. Por ejemplo, se pudo identificar que una interacción de competencia puede ser clasificada de dos formas dependiendo de la respuesta de ambos organismos. En la competencia pasiva los dos organismos presentaban un efecto detrimental similar en el crecimiento. No obstante, en una interacción de competencia activa aunque ambos presentaban el efecto detrimental uno de los organismos presentó un efecto negativo mayor en el crecimiento a causa de la interacción. En este ejemplo se puede evaluar a la competencia a partir de la hipótesis de la Reina Roja (Leung, *et al.*, 2012), en donde ambos organismos se enfrascan en una carrera armamentista por los recursos respondiendo continuamente a los cambios del otro organismo presentando siempre una interacción de competencia.

Interacciones hongo – hongo

En los bioensayos de interacción entre miembros de la comunidad fúngica, se observó un patrón general donde en un inicio las interacciones fueron de cooperación y de comensalismo. Un ejemplo es la interacción intraespecífica entre *Sordariales* sp. 1 genotipo 2, en donde la interacción fue completamente positiva, y ambos organismos se beneficiaron del co-cultivo. Otro ejemplo es de amensalismo es entre *Aspergillaceae* sp. 4 y *Sordariales* sp. 1 genotipo 2 en el día 14 de la interacción. Este patrón en particular se puede explicar con la teoría ecológica del Mercado Microbiano. Esta teoría ecológica expone el intercambio de bienes o servicios entre microorganismos, en términos del mercado financiero. La respuesta de cada uno de los microorganismos depende del beneficio (en términos de crecimiento o recursos que éstos obtengan. Esta teoría explica patrones de interacciones positivas y su cambio a otro tipo de interacción, ya que cada uno de los organismos presenta diferentes estrategias, dependiendo de la utilidad y disponibilidad del recurso que el otro organismo ofrece. Por lo tanto, son capaces de modular la interacción y responder cambiando de estrategia con el interactuante (Werner *al.*, 2014).

En este sentido, observamos cambios en el crecimiento como es el caso de *Aspergillaceae* sp. 4 y *Sordariales* sp. 1 genotipo 1. Es decir, al principio del experimento (día 7) la interacción fue de competencia, pero a partir

del día 14 estas cambiaron a competencia pasiva. Es decir, A partir de esto podemos hipotetizar entonces que los organismos en los primeros días del bioensayo podrían encontrarse en un momento de intercambio de bienes, así como en un análisis de la calidad de los mismos, a partir de lo cual van a mantener o cambiar su estrategia. Por otra parte a partir del día 14, las interacciones que prevalecieron en los bioensayos fueron de antagonismo y de competencia (tanto activa como pasiva) como fue el caso de la interacción intraespecífica entre *Penicillium* sp. 2 presentando esta interacción desde el día 14 hasta el final del experimento. Lo cual es interesante teniendo en cuenta que es lo contrario a la teoría de Mitri y Foster (2013) en donde se espera relaciones de cooperación entre organismos con el mismo genotipo, aunque queda resuelto a partir de la hipótesis de Mercado Microbiano en donde probablemente no hubo un intercambio de bienes conveniente.

Entre los micromicetos aislados de las zonas mínimas de oxígeno, sí se presentaron interacciones intraespecíficas de cooperación constantes en el tiempo. Esto puede explicarse a partir de que en interacciones intraespecíficas los organismos con el mismo genotipo se reconocen entre sí y cooperan, como fue el caso de *Sordariales* sp. 1 genotipo 2. Esta hipótesis se comprueba porque la interacción permanece constante a lo largo de los días, sin importar que los recursos vayan disminuyendo pues se comportan como una unidad (Mitri & Foster, 2013).

Se identificaron algunas interacciones estables de competencia al día 14 del experimento (*Penicillium* sp. 2 y *Sordariales* sp. 1 genotipo 2), lo cual puede explicarse con la hipótesis de la Reina Roja, en la que ambos organismos se ven envueltos en una competencia constante para poder subsistir y seguir conteniendo determinando ciertas estrategias (Leung, *et al.*, 2012). Este tipo de comportamiento es esperable, teniendo en cuenta la disminución de nutrientes que puede haber en un sistema cerrado como lo es un bioensayo de cultivo en una caja Petri.

Interacciones bacteria – bacteria

En bacterias las interacciones dominantes a lo largo de todo el experimento fueron de antagonismo y competencia en todos los bioensayos (22 interacciones de antagonismo y 35 de competencia tanto activa como pasiva). Este resultado se puede explicar a partir de que ambos organismos se encuentran ocupando el mismo recurso, por lo que se vuelve necesario adoptar una estrategia en la que se tenga que ganar el recurso y a su vez evitar que el competidor lo obtenga. Sin embargo, esto no siempre va a generar un beneficio inmediato sobre la colonia, como en el caso de una competencia en la que los dos organismos quieren explotar el mismo recurso, y se ven afectados durante la interacción. Este suceso se explica en términos de la teoría del Mercado Microbiano, ya que en este tipo de interacciones no existe un bien o servicio para compartir, o ninguno de los bienes o servicios propuestos por los microorganismos interactuantes es de beneficio para el otro. De esta forma, al tener recursos limitados, la estrategia que adquieren es evitar que el otro obtenga el recurso, ya sea mediante competencia, por interferencia o competencia vía metabolitos secundarios y manteniendo al otro organismo limitado de recursos.

Se identificaron casos de cooperación a partir del día 14 (en los días finales) de la evaluación de las interacciones como, por ejemplo, en el caso de Bacteria sp. 1 y Bacillus sp. 2, así como con Bacteria sp. 2 y Bacillus sp. 3. Estos resultados sugieren que, bajo condiciones de estrés, en este caso nutricional, los organismos cooperan entre ellos para sobrellevar la escasez de recursos en un altruismo microbiano. Otra explicación, partiendo de la teoría del mercado microbiano, es que los microorganismos se encuentran metabólicamente acoplados, por lo que no necesitan competir por el mismo recurso y quizás tienen la capacidad de biotransformar los metabolitos secretados del otro organismo.

En los bioensayos entre bacterias, se observaron interacciones intraespecíficas negativas estables a escala temporal en algunos bioensayos de co-cultivo. Esto fue contrario a lo explicado con la teoría de Mitri y Foster (2013), en donde se postula que organismos con el mismo genotipo se pueden reconocer y en este caso formar interacciones de cooperación permanentes a lo largo de los días. En el caso de *Massilia* sp. se obtuvo una

respuesta de competencia activa durante todo el experimento lo cual puede ser resultado de que aunque presenten el mismo genotipo cada colonia reconoce como una entidad diferente.

En este bioensayo observamos dos patrones a una escala temporal en las interacciones. En el primer tipo, la interacción permaneció constante desde el primer día evaluado y no hubo cambios en ésta a lo largo del tiempo. En el segundo tipo, la interacción fue cambiante durante todo el experimento. Estas dos formas de interacción podrían reflejar las estrategias de los organismos en los ecosistemas, y darnos información sobre el comportamiento de estos durante las interacciones o en la comunidad microbiana. Para el patrón de interacciones constantes, podemos hipotetizar que existen organismos que presentan interacciones “clave”, cuya coexistencia se ha llevado a cabo durante un largo tiempo y advierten las ventajas y desventajas metabólicas representa dicha interacción, y por lo tanto tienen una interacción o estrategia establecida previamente.

También, este patrón constante puede ser el resultado de la estrategia de un solo organismo. Es decir, un organismo, el organismo interactuante tiene una estrategia preestablecida para obtener recursos y colonizar un nuevo sitio sin importar con quien se encuentre en interacción. Por ejemplo, la producción de metabolitos secundarios o la producción de biomasa a gran escala generan una ventaja competitiva. Para cualquiera de las dos estrategias, es posible que la comunidad microbiana presente estabilidad, al mantener un cierto número de interacciones constantes a lo largo del tiempo.

En el patrón cambiante, no va a existir un establecimiento de las interacciones; ya que éstas van a encontrarse en un cambio constante, probablemente por ser organismos más susceptibles a las condiciones ambientales presentes, o a los organismos interactuantes. Este tipo de patrones ofrecen dinamismo a la comunidad, y resiliencia ante cambios; los organismos que los presentan probablemente poseen gran plasticidad genotípica

por la necesidad de pronta respuesta. Por lo que es probable que el patrón en general permite que el ecosistema tenga dinamismo, que le permite soportar cambios ambientales drásticos, o la presencia de otros organismos.

Interacciones hongo – bacteria

En las interacciones entre hongos y bacterias se presentaron cambios en el tiempo en la mayoría de los bioensayos, iniciando con competencia, seguido de cooperación y terminando con antagonismo, por ejemplo, el caso de *Massilia* sp. con *Aspergillaceae* sp. 4 en donde los organismos al día 7 presentaban una interacción de competencia pasiva, para cambiar a cooperación en el día 14 y finalmente a antagonismo al día 20. Cabe destacar que existió un cambio hacia la cooperación en el día 14 en muchos de los bioensayos, lo cual se puede explicar con la teoría del Mercado Microbiano; probablemente los primeros días de la interacción los organismos se encuentran evaluando el entorno, al otro organismo y a los recursos en el ambiente, mostrando estrategias de competencia inicial contra otro organismo interactuante. Posteriormente es probable que se estableciera un intercambio de bienes o servicios entre algunos, generando una interacción de cooperación. Al ver que la estrategia de cooperación no es la óptimo en ese ambiente, las interacciones predominantes se volvieron de competencia. Cabe resaltar que en este experimento se observaron pocas interacciones estables a lo largo del tiempo, ya que la mayoría presentó un patrón dinámico.

En este tipo de interacciones se observó una morfología inusual de crecimiento en las colonias bacterianas, puesto que éstas generaban proyecciones digitiformes en dirección al hongo, hasta entrar en contacto físico con el aislado, para posteriormente intercalarse entre sus hifas y crecer en torno a ellas. Existen diversas teorías sobre la finalidad de este tipo de interacción, o de los mecanismos que la regulan. Sin embargo, aún se tiene poca información al respecto. Trabajos como el de Warmink y colaboradores (2011) describen una teoría, la cual plantea que las bacterias utilizan las hifas de los hongos como si éstas fueran carreteras o caminos para transportarse. Por otra parte, en el trabajo de Velez y colaboradores (2018) se describe que éstas bacterias quedan adheridas a la superficie de la hifa a partir de material fibroso adhesivo. Deveau y colaboradores (2018) nombran los mecanismos de reconocimiento para este tipo de interacción bacteria-hongo de la siguiente

forma: una antibiosis, en la que hay un intercambio de metabolitos; señalización y quimiotaxis, en donde hay identificación de metabolitos y posibles conversiones de algunos de ellos; y finalmente cambios fisicoquímicos después de la adhesión y una posterior secreción de proteínas.

Por último, en este trabajo se observaron diferentes interacciones de antagonismo y competencia, con un patrón único de crecimiento. Se encontraban involucrados dos especies de *Bacillus* (*Bacillus* sp. 2, *Bacillus* sp. 10) y todos los hongos del bioensayo. Los hongos en este caso presentaron un efecto detrimental en su crecimiento mientras que las bacterias obtuvieron una respuesta positiva durante la interacción, al tener una tasa de crecimiento mayor. Por lo tanto, podemos proponer que este tipo de interacciones probablemente sea una estrategia ecológica de parte de la bacteria, gracias a la cual puede transportarse a nuevos sitios de una forma eficaz; también le permite lidiar con el estrés ambiental que presenta la baja disponibilidad de nutrientes en un sitio, así como encontrarse bajo el resguardo de un organismo con mayor biomasa, el cual puede proporcionar nutrientes y un ambiente seguro por su tipo de alimentación (osmótrofos).

9. CONCLUSIONES

De forma general y teniendo en cuenta los límites de trabajar con una técnica cultivo dependiente, podemos sugerir que la diversidad de organismos en los subsistemas hidrotermales está fuertemente relacionada con las condiciones micro-ambientales del sitio analizado. Pudimos comprobar que, aunque aparentemente los sitios presenten condiciones similares de temperatura, presión hidrostática y sustrato, las comunidades microbianas cultivables pueden ser completamente diferentes como fue el caso de la Falla Transformante Pescadero. Esto probablemente se deba al tipo de interacciones presentes en el sitio y como los organismos a través de las interacciones modulan la comunidad microbiana.

En el presente trabajo pudimos comprobar que el uso de un mayor número de índices de interacción mejora la resolución al momento de clasificar el tipo de interacción ecológica entre los microorganismos. Además, es necesario mencionar que es importante comprar la respuesta de cada organismo en la interacción para así obtener de forma más precisa el tipo de interacción evaluada. Asimismo, observamos que las interacciones microbianas son dependientes del genotipo del interactuante, y se modulan por diferentes mecanismos que permitieron a cada uno de los interactuantes responder ante la presencia del otro. Estos mecanismos se pueden nombrar a partir de la respuesta en la adecuación como es el crecimiento en biomasa y se pueden caracterizar como diferentes interacciones microbianas.

De igual forma pudimos comprobar que existen diferentes estrategias ecológicas que los microorganismos adoptan durante la interacción, y éstas se dan a diversas escalas (temporales y espaciales). Tanto a nivel individual como a nivel comunidad, donde las interacciones promueven el mantenimiento de la comunidad microbiana como una totalidad. En este sentido, la resiliencia del ecosistema va a depender de diferentes tipos de interacciones a una escala temporal, en donde van a haber interacciones claves permanentes a lo largo del tiempo y las cuales darán estabilidad al ecosistema y también interacciones dinámicas las cuales cambien a través del tiempo y proporcionen dinamismo al sistema y la capacidad de responder ante cambios.

Aunque no existió un patrón evidente en el tipo de interacción a nivel local (por sitio de estudio), se evidenció que las interacciones intraespecíficas se conservaron en ambos grupos (hongos y bacterias) a lo largo del tiempo. Finalmente cabe mencionar que las comunidades microbianas son un sistema complejo, por lo cual se necesitan diferentes aproximaciones para su estudio que permitan entender cómo funcionan los ecosistemas, en este caso como los sistemas hidrotermales y las zonas mínimas de oxígeno.

10. LITERATURA CITADA

- Aiking, H., Stijnman, A., Van Garderen, C., Van Heerikhuizen, H., & Van't Riet, J. (1984). Inorganic phosphate accumulation and cadmium detoxification in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 growing in continuous culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47(2), 374-377.
- Allen, D. E., & Seyfried Jr, W. E. (2004). Serpentinization and heat generation: constraints from Lost City and Rainbow hydrothermal systems. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68(6), 1347-1354.
- Arnold, A. E., Mejía, L. C., Kylo, D., Rojas, E. I., Maynard, Z., Robbins, N., & Herre, E. A. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(26), 15649-15654.
- Barghouthi, S. A. (2011). A universal method for the identification of bacteria based on general PCR primers. *Indian journal of microbiology*, 51(4), 430-444.
- Beatty, J. T., Overmann, J., Lince, M. T., Manske, A. K., Lang, A. S., Blankenship, R. E., ... & Plumley, F. G. (2005). An obligately photosynthetic bacterial anaerobe from a deep-sea hydrothermal vent. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(26), 9306-9310.
- Bennett, S. A., Van Dover, C., Breier, J. A., & Coleman, M. (2015). Effect of depth and vent fluid composition on the carbon sources at two neighboring deep-sea hydrothermal vent fields (Mid-Cayman Rise). *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 104, 122-133.
- Bertagnolli, A. D., & Stewart, F. J. (2018). Microbial niches in marine oxygen minimum zones. *Nature reviews. Microbiology*.
- Besetti, J. (2007). An introduction to PCR inhibitors. *J Microbiol Methods*, 28, 159-67.
- Blasche, S., Kim, Y., Oliveira, A. P., & Patil, K. R. (2017). Model microbial communities for ecosystems biology. *Current Opinion in Systems Biology*, 6, 51-57.
- Bouraoui, H., Rebib, H., Aissa, M. B., Touzel, J. P., O'donohue, M., & Manai, M. (2013). *Paenibacillus marinum* sp. nov., a thermophilic xylanolytic bacterium isolated from a marine hot spring in Tunisia. *Journal of basic microbiology*, 53(11), 877-883.
- Brazelton, W. (2017). Hydrothermal vents. *Current Biology*, 27(11), R450-R452.

- Brazelton, W. (2017). Hydrothermal vents. *Current Biology*, 27(11), R450-R452.
- Burgaud, G., Arzur, D., Durand, L., Cambon-Bonavita, M. A., & Barbier, G. (2010). Marine culturable yeasts in deep-sea hydrothermal vents: species richness and association with fauna. *FEMS microbiology ecology*, 73(1), 121-133.
- Burgaud, G., Le Calvez, T., Arzur, D., Vandenkoornhuysse, P., & Barbier, G. (2009). Diversity of culturable marine filamentous fungi from deep-sea hydrothermal vents. *Environmental Microbiology*, 11(6), 1588-1600.
- Caccamo, D., Gugliandolo, C., Stackebrandt, E., & Maugeri, T. L. (2000). *Bacillus vulcani* sp. nov., a novel thermophilic species isolated from a shallow marine hydrothermal vent. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 50(6), 2009-2012.
- Cartee, J. C. (2014). Significant changes in microbial community composition in the Gulf of Mexico "Dead Zone" over a diel cycle. Thesis Bachelor in Science, Georgia Institute of Technology
- Cavanaugh, C. M., Gardiner, S. L., Jones, M. L., Jannasch, H. W., & Waterbury, J. B. (1981). Prokaryotic cells in the hydrothermal vent tube worm *Riftia pachyptila* Jones: possible chemoautotrophic symbionts. *Science*, 340-342.
- Cavanaugh, C. M., Gardiner, S. L., Jones, M. L., Jannasch, H. W., & Waterbury, J. B. (1981). Prokaryotic cells in the hydrothermal vent tube worm *Riftia pachyptila* Jones: possible chemoautotrophic symbionts. *Science*, 340-342.
- Chen, Y., Mao, W., Gao, Y., Teng, X., Zhu, W., Chen, Y., ... & Shan, J. (2013). Structural elucidation of an extracellular polysaccharide produced by the marine fungus *Aspergillus versicolor*. *Carbohydrate polymers*, 93(2), 478-483.
- Chiu, B. K., Kato, S., McAllister, S. M., Field, E. K., & Chan, C. S. (2017). Novel pelagic iron-oxidizing Zetaproteobacteria from the Chesapeake Bay oxic–anoxic transition zone. *Frontiers in microbiology*, 8, 1280.
- Clague, D. A., Caress, D. W., Dreyer, B. M., Lundsten, L., Paduan, J. B., Portner, R. A., ... & Le Saout, M. (2018). Geology of the Alarcon Rise, Southern Gulf of California. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 19(3), 807-837.
- Cordero, O. X., & Datta, M. S. (2016). Microbial interactions and community assembly at microscales. *Current opinion in microbiology*, 31, 227-234.
- Cruaud, P., Vigneron, A., Pignet, P., Caprais, J. C., Lesongeur, F., Toffin, L., ... & Cambon-Bonavita, M. A. (2017). Comparative study of Guaymas Basin microbiomes: Cold seeps vs. hydrothermal vents sediments. *Frontiers in Marine Science*, 4, 417.

- Dean, W. E. (2006). The geochemical record of the last 17,000 years in the Guaymas Basin, Gulf of California. *Chemical Geology*, 232(3-4), 87-98.
- Deveau, A., Bonito, G., Uehling, J., Paoletti, M., Becker, M., Bindschedler, S., ... & Mieszkin, S. (2018). Bacterial–fungal interactions: ecology, mechanisms and challenges. *FEMS microbiology reviews*, 42(3), 335-352.
- Ding, C., Wu, X., Auckloo, B., Chen, C. T., Ye, Y., Wang, K., & Wu, B. (2016). An unusual stress metabolite from a hydrothermal vent fungus *Aspergillus* sp. WU 243 induced by cobalt. *Molecules*, 21(1), 105.
- Ding, J., Zhang, Y., Wang, H., Jian, H., Leng, H., & Xiao, X. (2017). Microbial community structure of deep-sea hydrothermal vents on the ultraslow spreading Southwest Indian ridge. *Frontiers in microbiology*, 8, 1012.
- Ding, J., Zhang, Y., Wang, H., Jian, H., Leng, H., & Xiao, X. (2017). Microbial community structure of deep-sea hydrothermal vents on the ultraslow spreading Southwest Indian ridge. *Frontiers in microbiology*, 8, 1012.
- Dowell, F., Cardman, Z., Dasarathy, S., Kellermann, M. Y., Lipp, J. S., Ruff, S. E., ... & Albert, D. B. (2016). Microbial communities in methane-and short chain alkane-rich hydrothermal sediments of Guaymas Basin. *Frontiers in microbiology*, 7, 17.
- Doyle, J. J., and Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19, 11–15.
- Driks, A. (2004). The *Bacillus* spore coat. *Phytopathology*, 94(11), 1249-1251.
- Faust, K., & Raes, J. (2012). Microbial interactions: from networks to models. *Nature Reviews Microbiology*, 10(8), 538.
- Friedman, J., & Gore, J. (2017). Ecological systems biology: The dynamics of interacting populations. *Current Opinion in Systems Biology*, 1, 114-121.
- Friedman, J., & Gore, J. (2017). Ecological systems biology: The dynamics of interacting populations. *Current Opinion in Systems Biology*, 1, 114-121.
- Früh-Green, G. L., Kelley, D. S., Bernasconi, S. M., Karson, J. A., Ludwig, K. A., Butterfield, D. A., ... & Proskurowski, G. (2003). 30,000 years of hydrothermal activity at the Lost City vent field. *Science*, 301(5632), 495-498.
- Ghoul, M., & Mitri, S. (2016). The ecology and evolution of microbial competition. *Trends in microbiology*, 24(10), 833-845.

- Goffredi, S. K., Johnson, S., Tunnicliffe, V., Caress, D., Clague, D., Escobar, E., ... & Soto, L. A. (2017). Hydrothermal vent fields discovered in the southern Gulf of California clarify role of habitat in augmenting regional diversity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1859), 20170817.
- Grassle, J. F. (1987). The ecology of deep-sea hydrothermal vent communities. In *Advances in Marine Biology* (Vol. 23, pp. 301-362). Academic Press.
- Grassle, J. F. (1987). The ecology of deep-sea hydrothermal vent communities. In *Advances in Marine Biology* (Vol. 23, pp. 301-362). Academic Press.
- Grassle, J. F., & Maciolek, N. J. (1992). Deep-sea species richness: regional and local diversity estimates from quantitative bottom samples. *The American Naturalist*, 139(2), 313-341.
- Hasan, N. A., Grim, C. J., Lipp, E. K., Rivera, I. N., Chun, J., Haley, B. J., ... & Brettin, T. S. (2015). Deep-sea hydrothermal vent bacteria related to human pathogenic *Vibrio* species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(21), E2813-E2819.
- Heist, E. P., Nesmith, W. C., & Schardl, C. L. (2001). Cocultures of *Peronospora tabacina* and *Nicotiana* species to study host-pathogen interactions. *Phytopathology*, 91(12), 1224-1230.
- Hellsbury, P., & Parkes, R. J. (2000). Deep biosphere: Source of methane for oceanic hydrate. In *Natural Gas Hydrate* (pp. 91-104). Springer, Dordrecht.
- Hendrickx, M., & Serrano, D. (2014). Effects of the oxygen minimum zone on squat lobster distributions in the Gulf of California, Mexico. *Open Life Sciences*, 9(1), 92-103.
- Hessler, R. R., & Kaharl, V. A. (1995). The deep-sea hydrothermal vent community: an overview. Washington DC American Geophysical Union Geophysical Monograph Series, 91, 72-84.
- Horikoshi, K. (1998). Barophiles: deep-sea microorganisms adapted to an extreme environment. *Current opinion in microbiology*, 1(3), 291-295.
- Hutchinson, G. E. (1978). *An introduction to population ecology*.
- Jannasch, H. W. (1985). Review Lecture-The chemosynthetic support of life and the microbial diversity at deep-sea hydrothermal vents. *Proceedings of the Royal society of London. Series B. Biological sciences*, 225(1240), 277-297.

- Jannasch, H. W., & Mottl, M. J. (1985). Geomicrobiology of deep-sea hydrothermal vents. *Science*, 229(4715), 717-725.
- Jannasch, H. W., & Mottl, M. J. (1985). Geomicrobiology of deep-sea hydrothermal vents. *Science*, 229(4715), 717-725.
- Jannasch, H. W., & Wirsen, C. O. (1973). Deep-sea microorganisms: in situ response to nutrient enrichment. *Science*, 180(4086), 641-643
- Jeanthon, C. (2000). Molecular ecology of hydrothermal vent microbial communities. *Antonie van Leeuwenhoek*, 77(2), 117-133.
- Jebaraj, C. S., Raghukumar, C., Behnke, A., & Stoeck, T. (2010). Fungal diversity in oxygen-depleted regions of the Arabian Sea revealed by targeted environmental sequencing combined with cultivation. *FEMS Microbiology Ecology*, 71(3), 399-412.
- Jones, W. J., Leigh, J. A., Mayer, F., Woese, C. R., & Wolfe, R. S. (1983). *Methanococcus jannaschii* sp. nov., an extremely thermophilic methanogen from a submarine hydrothermal vent. *Archives of Microbiology*, 136(4), 254-261.
- Jones, W. J., Leigh, J. A., Mayer, F., Woese, C. R., & Wolfe, R. S. (1983). *Methanococcus jannaschii* sp. nov., an extremely thermophilic methanogen from a submarine hydrothermal vent. *Archives of Microbiology*, 136(4), 254-261.
- Jørgensen, B. B., Zawacki, L. X., & Jannasch, H. W. (1990). Thermophilic bacterial sulfate reduction in deep-sea sediments at the Guaymas Basin hydrothermal vent site (Gulf of California). *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 37(4), 695-710.
- Kato, C., Inoue, A., & Horikoshi, K. (1996). Isolating and characterizing deep-sea marine microorganisms. *Trends in biotechnology*, 14(1), 6-12.
- Kato, C., Sato, T., & Horikoshi, K. (1995). Isolation and properties of barophilic and barotolerant bacteria from deep-sea mud samples. *Biodiversity & Conservation*, 4(1), 1-9.
- Kelley, D. S., Karson, J. A., Früh-Green, G. L., Yoerger, D. R., Shank, T. M., Butterfield, D. A., ... & Jakuba, M. (2005). A serpentinite-hosted ecosystem: the Lost City hydrothermal field. *Science*, 307(5714), 1428-1434.
- Kelly, L. C., Cockell, C. S., Thorsteinsson, T., Marteinson, V., & Stevenson, J. (2014). Pioneer microbial communities of the Fimmvörðuháls lava flow, Eyjafjallajökull, Iceland. *Microbial ecology*, 68(3), 504-518.

- Kolda, A., Petrić, I., Mucko, M., Gottstein, S., Žutinić, P., Goreta, G., ... & Udovič, M. G. (2019). How environment selects: Resilience and survival of microbial mat community within intermittent karst spring Krčić (Croatia). *Ecohydrology*, 12(2), e2063.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549.
- Lane, D. J. (1991). "16S/23S rRNA sequencing," in *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, ed. E. Stackebrandt and M. Goodfellow (Hoboken, NJ: John Wiley and Sons), 115–175
- Lara-Lara, J.R., et al. 2008. Los ecosistemas marinos, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, pp. 135-159
- Leung, T. L., King, K. C., & Wolinska, J. (2012). Escape from the Red Queen: an overlooked scenario in coevolutionary studies. *Oikos*, 121(5), 641-645.
- Llanos, J., Capasso, C., Parisi, E., Prieur, D., & Jeanthon, C. (2000). Susceptibility to heavy metals and cadmium accumulation in aerobic and anaerobic thermophilic microorganisms isolated from deep-sea hydrothermal vents. *Current Microbiology*, 41(3), 201-205.
- Lowell, R. P., & Rona, P. A. (2002). Seafloor hydrothermal systems driven by the serpentinization of peridotite. *Geophysical Research Letters*, 29(11), 26-1.
- Lutz, R. A., & Kennish, M. J. (1993). Ecology of deep-sea hydrothermal vent communities: A review. *Reviews of Geophysics*, 31(3), 211-242.
- Madsen, J. S., Sørensen, S. J., & Burmølle, M. (2018). Bacterial social interactions and the emergence of community-intrinsic properties. *Current opinion in microbiology*, 42, 104-109.
- Marteinsson, V., Birrien, J. L., Jeanthon, C., & Prieur, D. (1996). Numerical taxonomic study of thermophilic *Bacillus* isolated from three geographically separated deep-sea hydrothermal vents. *FEMS microbiology ecology*, 21(4), 255-266.
- Martin, W., Baross, J., Kelley, D., & Russell, M. J. (2008). Hydrothermal vents and the origin of life. *Nature Reviews Microbiology*, 6(11), 805.

- Martin, W., Baross, J., Kelley, D., & Russell, M. J. (2008). Hydrothermal vents and the origin of life. *Nature Reviews Microbiology*, 6(11), 805.
- Martin, W., Baross, J., Kelley, D., & Russell, M. J. (2008). Hydrothermal vents and the origin of life. *Nature Reviews Microbiology*, 6(11), 805.
- Martínez-Álvarez, P., Fernández-González, R.A., Sanz-Ros, A.V., Pando, V., Diez, J.J., (2015). Two fungal endophytes reduce the severity of pitch canker disease in *Pinus radiata* seedlings, *Biological Control*
- Mas, A., Jamshidi, S., Lagadeuc, Y., Eveillard, D., & Vandenkoornhuysen, P. (2016). Beyond the black queen hypothesis. *The ISME journal*, 10(9), 2085.
- Medrano-Santillana, M., Souza-Brito, E. M., Duran, R., Gutierrez-Corona, F., & Reyna-López, G. E. (2017). Bacterial diversity in fumarole environments of the Parícutín volcano, Michoacán (Mexico). *Extremophiles*, 21(3), 499-511.
- Minic, Z., & Hervé, G. (2004). Biochemical and enzymological aspects of the symbiosis between the deep-sea tubeworm *Riftia pachyptila* and its bacterial endosymbiont. *European journal of biochemistry*, 271(15), 3093-3102.
- Mishra, V. K. (2010). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against *Pythium aphanidermatum*. *Journal of Phytology*.
- Mitri, S., & Richard Foster, K. (2013). The genotypic view of social interactions in microbial communities. *Annual review of genetics*, 47, 247-273.
- Moyer, C. L., Dobbs, F. C., & Karl, D. M. (1995). Phylogenetic diversity of the bacterial community from a microbial mat at an active, hydrothermal vent system, Loihi Seamount, Hawaii. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(4), 1555-1562.
- Nei M. and Kumar S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Nichols, C. M., Guezennec, J., & Bowman, J. P. (2005). Bacterial exopolysaccharides from extreme marine environments with special consideration of the southern ocean, sea ice, and deep-sea hydrothermal vents: a review. *Marine biotechnology*, 7(4), 253-271.
- Nicolaus, B., Panico, A., Manca, M. C., Lama, L., Gambacorta, A., Maugeri, T., ... & Caccamo, D. (2000). A thermophilic *Bacillus* isolated from an Eolian shallow hydrothermal vent able to produce exopolysaccharides. *Systematic and applied microbiology*, 23(3), 426-432.

- Orole, O.O., Adejumo, T.O., (2009). Activity of fungal endophytes against four maize wilt pathogens. *African J. Microbiol. Res.* 3, 969–973.
- Paduan, J. B., Zierenberg, R. A., Clague, D. A., Spelz, R. M., Caress, D. W., Troni, G., ... & Lupton, J. (2018). Discovery of hydrothermal vent fields on Alarcón Rise and in southern Pescadero Basin, Gulf of California. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 19(12), 4788-4819.
- Pan, C., Shi, Y., Auckloo, B. N., ul Hassan, S. S., Akhter, N., Wang, K., ... & Wu, B. (2017). Isolation and Antibiotic Screening of Fungi from a Hydrothermal Vent Site and Characterization of Secondary Metabolites from a *Penicillium* Isolate. *Marine biotechnology*, 19(5), 469-479.
- Petersen, J. M., Zielinski, F. U., Pape, T., Seifert, R., Moraru, C., Amann, R., ... & Pelletier, E. (2011). Hydrogen is an energy source for hydrothermal vent symbioses. *Nature*, 476(7359), 176.
- Ponomarova, O., & Patil, K. R. (2015). Metabolic interactions in microbial communities: untangling the Gordian knot. *Current opinion in microbiology*, 27, 37-44.
- Prasad, S., Manasa, P., Buddhi, S., Singh, S. M., & Shivaji, S. (2011). Antagonistic interaction networks among bacteria from a cold soil environment. *FEMS microbiology ecology*, 78(2), 376-385.
- Prasad, S., Manasa, P., Buddhi, S., Singh, S. M., & Shivaji, S. (2011). Antagonistic interaction networks among bacteria from a cold soil environment. *FEMS microbiology ecology*, 78(2), 376-385.
- Prosser, J. I., Bohannan, B. J., Curtis, T. P., Ellis, R. J., Firestone, M. K., Freckleton, R. P., ... & Osborn, A. M. (2007). The role of ecological theory in microbial ecology. *Nature Reviews Microbiology*, 5(5), 384.
- Purahong, W., Wubet, T., Lentendu, G., Schloter, M., Pecyna, M. J., Kapturska, D., ... & Buscot, F. (2016). Life in leaf litter: novel insights into community dynamics of bacteria and fungi during litter decomposition. *Molecular Ecology*, 25(16), 4059-4074.
- Rabha, A. J., Naglot, A., Sharma, G. D., Gogoi, H. K., & Veer, V. (2014). In vitro evaluation of antagonism of endophytic *Colletotrichum gloeosporioides* against potent fungal pathogens of *Camellia sinensis*. *Indian journal of microbiology*, 54(3), 302-309.
- Royse, D.J., Ries, S.M., (1978). Influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. *Phytopathology* 68, 603–607.

- Sachs, J. L., & Hollowell, A. C. (2012). The origins of cooperative bacterial communities. *MBio*, 3(3), e00099-12.
- 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).
- Santamaría, O., González, M.A., Pajares, J.A., Diez, J.J., (2007). Effect of fungicides, endophytes and fungal filtrates on in vitro growth of Spanish isolates of *Gremmeniella abietina*. *For. Pathol.* 37, 251–262.
- Schippers, A., Neretin, L. N., Kallmeyer, J., Ferdelman, T. G., Cragg, B. A., Parkes, R. J., & Jørgensen, B. B. (2005). Prokaryotic cells of the deep sub-seafloor biosphere identified as living bacteria. *Nature*, 433(7028), 861.
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., & Johne, R. (2012). PCR inhibitors—occurrence, properties and removal. *Journal of applied microbiology*, 113(5), 1014-1026.
- Schrenk, M. O., Brazelton, W. J., & Lang, S. Q. (2013). Serpentinization, carbon, and deep life. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 75(1), 575-606.
- Schwarzenbach, E. M., Früh-Green, G. L., Bernasconi, S. M., Alt, J. C., & Plas, A. (2013). Serpentinization and carbon sequestration: A study of two ancient peridotite-hosted hydrothermal systems. *Chemical Geology*, 351, 115-133.
- Shamim, S., & Rehman, A. (2012). Cadmium resistance and accumulation potential of *Klebsiella pneumoniae* strain CBL-1 isolated from industrial wastewater. *Pakistan Journal Zoology*, 44, 203-208.
- Shen, L., Liu, Y., Wang, N., Yao, T., Jiao, N., Liu, H., ... & Liu, X. (2013). *Massiliayuzhufengensis* sp. nov., isolated from an ice core. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 63(4), 1285-1290.
- Stief, P., Fuchs-Ocklenburg, S., Kamp, A., Manohar, C. S., Houbraken, J., Boekhout, T., ... & Stoeck, T. (2014). Dissimilatory nitrate reduction by *Aspergillus terreus* isolated from the seasonal oxygen minimum zone in the Arabian Sea. *BMC microbiology*, 14(1), 35.
- Stokke, R., Dahle, H., Roalkvam, I., Wissuwa, J., Daae, F. L., Tooming-Klunderud, A., ... & Steen, I. H. (2015). Functional interactions among filamentous *Epsilonproteobacteria* and *Bacteroidetes* in a deep-sea hydrothermal vent biofilm. *Environmental microbiology*, 17(10), 4063-4077.

- Sun, Q. L., Wang, M. Q., & Sun, L. (2015). Characteristics of the cultivable bacteria from sediments associated with two deep-sea hydrothermal vents in Okinawa Trough. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(12), 2025-2037.
- Taylor, C. D., Wirsén, C. O., & Gaill, F. (1999). Rapid microbial production of filamentous sulfur mats at hydrothermal vents. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(5), 2253-2255.
- Taylor, C. D., Wirsén, C. O., & Gaill, F. (1999). Rapid microbial production of filamentous sulfur mats at hydrothermal vents. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(5), 2253-2255.
- Teske, A. P. (2005). The deep subsurface biosphere is alive and well. *Trends in microbiology*, 13(9), 402-404.
- Teske, A., Hinrichs, K. U., Edgcomb, V., de Vera Gomez, A., Kysela, D., Sylva, S. P., ... & Jannasch, H. W. (2002). Microbial diversity of hydrothermal sediments in the Guaymas Basin: evidence for anaerobic methanotrophic communities. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(4), 1994-2007.
- Trevors, J. T., Stratton, G. W., & Gadd, G. M. (1986). Cadmium transport, resistance, and toxicity in bacteria, algae, and fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, 32(6), 447-464.
- Van Dover, C. L. (1995). Ecology of mid-Atlantic ridge hydrothermal vents. Geological Society, London, Special Publications, 87(1), 257-294
- Velez, P., Espinosa-Asuar, L., Figueroa, M., Gasca-Pineda, J., Aguirre-von-Wobeser, E., Eguiarte, L. E., ... & Souza, V. (2018). Nutrient Dependent Cross-Kingdom Interactions: Fungi and Bacteria From an Oligotrophic Desert Oasis. *Frontiers in microbiology*, 9, 1755.
- 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.
- Wellsbury, P., & Parkes, R. J. (2000). Deep biosphere: Source of methane for oceanic hydrate. In *Natural Gas Hydrate* (pp. 91-104). Springer, Dordrecht.
- Werner, G. D., Strassmann, J. E., Ivens, A. B., Engelmoer, D. J., Verbruggen, E., Queller, D. C., ... & Kiers, E. T. (2014). Evolution of microbial markets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(4), 1237-1244.

- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. W. (1990). "Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics," in PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. eds M. A. Innis, D. H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White (Cambridge, MA: Academic Press Inc), 315–322.
- Whitman, W. B. (Ed.). (2015). *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria* (Vol. 410). Hoboken, NJ: Wiley.
- Wright, J. J., Konwar, K. M., & Hallam, S. J. (2012). Microbial ecology of expanding oxygen minimum zones. *Nature reviews microbiology*, 10(6), 381.
- Xu, W., Gong, L. F., Pang, K. L., & Luo, Z. H. (2018). Fungal diversity in deep-sea sediments of a hydrothermal vent system in the Southwest Indian Ridge. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 131, 16-26.
- Xu, W., Guo, S., Pang, K. L., & Luo, Z. H. (2017). Fungi associated with chimney and sulfide samples from a South Mid-Atlantic Ridge hydrothermal site: Distribution, diversity and abundance. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 123, 48-55.
- Zapién-Campos, R., Olmedo-Álvarez, G., & Santillán, M. (2015). Antagonistic interactions are sufficient to explain self-assembly of bacterial communities in a homogeneous environment: a computational modeling approach. *Frontiers in microbiology*, 6, 489.

11. Apéndices

Apéndice 1. Asignación taxonómica de aislados bacterianos

OTU	Cepa	Secuencia de referencia NCBI	% Cobertura	% Identidad	Número de acceso NCBI	Identidad
3	Una cepa (5.9)	<i>Bacillus drentensis</i>	100%	99.49%	NR_114085.	<i>Bacillus</i> sp. 1
		<i>Bacillus niacini</i>	100%	99.05%	NR_113777.	
		<i>Bacillus cucumis</i>	100%	98.83%	NR_148626	
		<i>Bacillus bataviensis</i>	100%	98.83%	NR_114093.1	
		<i>Bacillus novalis</i>	100%	98.47%	NR_042168.	
4	Una cepa (5.51)	<i>Massilia buxea</i>	100%	95.68%	NR_159161.	<i>Massilia</i> sp.
		<i>Massilia umbonata</i>	100%	95.68%	NR_125569.1	
		<i>Massilia jejuensis</i>	100%	95.51%	NR_116871.1	
		<i>Massilia brevitalea</i>	100%	95.51%	NR_044274.1	
		<i>Massilia lurida</i>	100%	95.32%	NR_109319.1	
7	Dos cepas (5.06 y 5.00)	<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	100%	99.64%	NR_042191.1	<i>Pseudomonas</i> sp.
		<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	100%	99.50%	NR_115005.1	
		<i>Pseudomonas oleovorans</i>	100%	99.21%	NR_043423.1	
		<i>Pseudomonas flavescens</i>	99%	96.69%	NR_114195.1	
		<i>Pseudomonas chengduensis</i>	99%	96.61%	NR_125523.1	
10	Cuatro cepas (1.11, 1.12, 7.1 y 4.73)	<i>Bacillus aerius</i>	100%	100.00%	NR_118439.1	<i>Bacillus</i> sp. 2
		<i>Bacillus stratosphericus</i>	100%	100.00%	NR_042336.1	
		<i>Bacillus altitudinis</i>	100%	100.00%	NR_042337.1	
		<i>Bacillus xiamenensis</i>	100%	99.93%	NR_148244.	
		<i>Bacillus safensis</i>	100%	99.58%	NR_113945.	
11	Tres cepas (5.98, 3.7 y	<i>Bacillus pseudomycoides</i>	100%	99.72%	NR_113991.1	<i>Bacillus</i> sp. 3
		<i>Bacillus albus</i>	100%	99.36%	NR_157729.1	
		<i>Bacillus</i>	100%	99.29%	NR_148248.1	

	3.9)	<i>bingmayongensis</i>				
		<i>Bacillus paramycoides</i>	100%	99.29%	NR_157734.1	
		<i>Bacillus cereus</i>	100%	99.29%	NR_074540.1	
12	Cuatro cepas (6. 19, 6. 18, 6.08 y 5.57)	<i>Klebsiella variicola</i>	100%	100.00%	NR_025635.1	<i>Klebsiella</i> sp.
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100%	99.71%	NR_112009.1	
		<i>Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis</i>	100%	99.29%	NR_037084.1	
		<i>Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae</i>	100%	99.14%	NR_119276.1	
		<i>Serratia liquefaciens</i>	100%	99.21%	NR_112008.1	
14	Siete cepas (5.78 6.27 6.29 3.17.2 3.3.1 3.7.1 1.19)	<i>Bacillus aryabhatai</i>	100%	99.86%	NR_115953.1	<i>Bacillus</i> sp. 4
		<i>Bacillus megaterium</i>	100%	99.86%	NR_112636.1	
		<i>Bacillus flexus</i>	100%	98.78%	NR_118382.1	
		<i>Bacillus simplex</i>	96%	99.40%	NR_115603.1	
		<i>Bacillus qingshengii</i>	100%	98.20%	NR_133978.1	
19	Una cepa (2.9)	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	100%	99.57%	NR_117723.2	<i>Paenibacillus</i> sp. 1
		<i>Paenibacillus jamilae</i>	100%	99.28%	NR_042009.1	
		<i>Paenibacillus peoriae</i>	100%	99.21%	NR_042092.1	
		<i>Paenibacillus kribbensis</i>	100%	98.71%	NR_025169.	
		<i>Paenibacillus terrae</i>	100%	98.00%	NR_025170.1	
20	Una cepa (5.08)	<i>Paenibacillus peoriae</i>	100%	99.56%	NR_042092.1	<i>Paenibacillus</i> sp. 2
		<i>Paenibacillus polymyxa</i>	100%	99.19%	NR_117732.2	
		<i>Paenibacillus kribbensis</i>	100%	99.12%	NR_025169.1	

		<i>Paenibacillus jamilae</i>	100%	98.61%	NR_042009.1	
		<i>Paenibacillus wenxiniae</i>	100%	95.89%	NR_145946.1	
21	Una cepa (2.5)	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	100%	99.08%	NR_117727.2	<i>Paenibacillus</i> sp. 3
		<i>Paenibacillus peoriae</i>	100%	98.92%	NR_117740.1	
		<i>Paenibacillus jamilae</i>	100%	98.69%	NR_042009.1	
		<i>Paenibacillus brasiliensis</i>	99%	98.54%	NR_025106.1	
		<i>Paenibacillus timonensis</i>	100%	95.92%	NR_115199.1	
22	Una cepa (2.7)	<i>Paenibacillus peoriae</i>	100%	99.70%	NR_117742.1	<i>Paenibacillus</i> sp. 4
		<i>Paenibacillus polymyxa</i>	99%	99.70%	NR_117733.2	
		<i>Paenibacillus kribbensis</i>	100%	99.26%	NR_025169.	
		<i>Paenibacillus terrae</i>	100%	97.04%	NR_025170.1	
		<i>Paenibacillus hunanensis</i>	99%	95.68%	NR_116440.1	
23	Una cepa (3.19)	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	100%	99.39%	NR_117724.2	<i>Paenibacillus</i> sp. 5
		<i>Paenibacillus jamilae</i>	100%	98.94%	NR_042009.1	
		<i>Paenibacillus peoriae</i>	100%	98.94%	NR_117740.1	
		<i>Paenibacillus brasiliensis</i>	100%	98.18%	NR_025106.1	
		<i>Paenibacillus hunanensis</i>	100%	94.55%	NR_116440.	
25	Cuatro cepas (4.5, 1.9, 1.20, 5.97)	<i>Bacillus haynesii</i>	100%	99.71%	NR_157609.1	<i>Bacillus</i> sp. 5
		<i>Bacillus licheniformis</i>	100%	99.50%	NR_118996.1	
		<i>Bacillus sonorensis</i>	100%	99.43%	NR_113993.1	
		<i>Bacillus swezeyi</i>	100%	98.64%	NR_157608.1	

		<i>Bacillus subtilis</i>	100%	98.64%	NR_104873.1	
26	Una cepa (2.3)	<i>Bacillus haynesii</i>	100%	98.53%	NR_157609.1	<i>Bacillus</i> sp. 6
		<i>Bacillus licheniformis</i>	100%	98.38%	NR_118996.1	
		<i>Bacillus sonorensis</i>	100%	98.30%	NR_113993.1	
		<i>Bacillus atrophaeus</i>	100%	96.91%	NR_024689.1	
		<i>Bacillus gobiensis</i>	100%	95.44%	NR_147766.1	
32	Una cepa (1.13)	<i>Bacillus subtilis subsp. subtilis</i>	100%	97.87%	NR_102783.2	<i>Bacillus</i> sp. 7
		<i>Bacillus tequilensis</i>	100%	97.87%	NR_104919.1	
		<i>Bacillus mojavenensis</i>	100%	97.61%	NR_118290.1	
		<i>Bacillus vallismortis</i>	100%	97.61%	NR_113994.1	
		<i>Bacillus velezensis</i>	100%	97.61%	NR_116240.1	
38	Una cepa (4.39)	<i>Bacillus nakamurai</i>	100%	98.24%	NR_151897.1	<i>Bacillus</i> sp. 8
		<i>Bacillus siamensis</i>	100%	98.25%	NR_117274.	
		<i>Bacillus halotolerans</i>	100%	98.24%	NR_115063.1	
		<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	100%	98.24%	NR_112685.1	
		<i>Bacillus mojavenensis</i>	100%	98.02%	NR_112725.1	
39	Una cepa (4.00)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	100%	99.85%	NR_117946.1	<i>Bacillus</i> sp. 9
		<i>Bacillus siamensis</i>	100%	99.85%	NR_117274.1	
		<i>Bacillus velezensis</i>	100%	99.85%	NR_116240.1	
		<i>Bacillus subtilis subsp. subtilis</i>	100%	99.54%	NR_102783.2	
		<i>Bacillus atrophaeus</i>	100%	99.54%	NR_112723.1	
41	Diez cepas (1.13, 1.14, 2.1,	<i>Bacillus subtilis subsp. inaquosorum</i>	100%	100.00%	NR_104873.1	<i>Bacillus</i> sp. 10
		<i>Bacillus subtilis</i>	100%	99.93%	NR_113265.1	

5.14, 5.15, 7.4, 4.35, 3.7, 9.4, 5.58)	<i>Bacillus subtilis</i> <i>subsp. spizizenii</i>	100%	99.93%	NR_112686.1	
	<i>Bacillus</i> <i>vallismortis</i>	100%	99.71%	NR_113994.1	
	<i>Bacillus</i> <i>halotolerans</i>	100%	99.71%	NR_115063.1	

Apéndice 2. Asignación taxonómica de aislados de micromicetos.

Aislado	Secuencia de referencia NCBI	% Cobertura	% Identidad	Número de acceso NCBI	Identidad
43	<i>Aspergillus terreus</i>	100%	98.92%	MK418744.1	<i>Aspergillus terreus</i>
	<i>Aspergillus terreus</i>	100%	98.92%	KP405921.1	
	<i>Aspergillus terreus</i> var. <i>terreus</i>	100%	98.92%	MH865977.1	
	<i>Aspergillus terreus</i>	100%	98.92%	MG840741.1	
	<i>Aspergillus terreus</i>	100%	98.92%	MH748155.1	
	<i>Aspergillus terreus</i>	100%	98.92%	MH424608.1	
48	<i>Penicillium shearii</i> / <i>Penicillium miczynskii</i>	99%	98.30%	MH865343.1	<i>Penicillium miczynskii</i>
	<i>Eupenicillium shearii</i> / <i>Penicillium miczynskii</i>	99%	97.92%	KF578127.1	
	<i>Penicillium shearii</i> / <i>Penicillium miczynskii</i>	99%	98.29%	KJ439199.1	
	<i>Penicillium shearii</i> / <i>Penicillium miczynskii</i>	100%	98.11%	AY232278.1	
	<i>Eupenicillium shearii</i> / <i>Penicillium miczynskii</i>	99%	97.92%	AJ004893.1	
	<i>Penicillium shearii</i> / <i>Penicillium miczynskii</i>	99%	98.11%	JX140868.1	
51A	<i>Podospora dimorpha</i>	100%	95.84%	NR_119564.1	<i>Sordariales</i> sp. 1
	<i>Zopfiella erostrata</i>	100%	98.75%	AY999133.1	
	<i>Cercophora caudata</i>	100%	98.54%	AY999135.1	
	<i>Immersiella caudata</i>	97%	97.86%	MK247338.1	
	<i>Podospora communis</i>	100%	92.74%	EU621831.1	
	<i>Apiosordaria microcarpa</i>	94%	91.45%	MH861542.1	
A	<i>Aspergillus chevalieri</i>	99%	99.19%	NR_135340.1	<i>Aspergillus</i> sp. 1
	<i>Aspergillus amstelodami</i>	99%	99.19%	MK267406.1	
	<i>Aspergillus intermedius</i>	99%	99.19%	MH855971.1	
	<i>Aspergillus montevidensis</i>	99%	99.19%	LT627267.1	
	<i>Aspergillus cristatus</i>	99%	99.19%	MG199954.1	
	<i>Aspergillus niveoglaucus</i>	99%	99.19%	MH806377.1	
	<i>Aspergillus ruber</i>	99%	99.19%	MF319919.1	

	<i>Aspergillus spiculosus</i>	99%	99.19%	MG250442.1	
B	<i>Podospora dimorpha</i>	100%	95.85%	NR_119564.1	<i>Sordariales</i> sp. 1
	<i>Zopfiella erostrata</i>	100%	98.75%	AY999133.1	
	<i>Cercophora caudata</i> / <i>Immersiella caudata</i>	100%	98.13%	KP050656.1	
	<i>Immersiella caudata</i>	97%	97.86%	MK247338.1	
	<i>Podospora communis</i>	100%	92.55%	EF197074.1	
	<i>Apiosordaria microcarpa</i>	94%	91.47%	MH861542.1	
C	<i>Cercophora caudata</i> / <i>Immersiella caudata</i>	100%	96.88%	AY999135.1	<i>Sordariales</i> sp. 2
	<i>Podospora dimorpha</i>	100%	94.18%	NR_119564.1	
	<i>Cercophora caudata</i> / <i>Immersiella caudata</i>	100%	96.47%	KP050656.1	
	<i>Zopfiella erostrata</i>	100%	97.08%	AY999133.1	
	<i>Cercophora</i>	100%	96.67%	KC507207.1	
	<i>Cercophora caudata</i> / <i>Immersiella caudata</i>	97%	97.21%	KR709031.1	
	<i>Immersiella caudata</i>	97%	96.36%	MK247338.1	
D	<i>Lepidosphaeria nicotiae</i>	90%	96.15%	NR_156218.1	<i>Pleosporales</i> sp.
	<i>Neotestudina rosatii</i> / <i>Neotestudina rosatii</i>	100%	88.33%	NR_160090.1	
	<i>Atrocalyx acutisporus</i>	100%	87.70%	NR_153586.1	
	<i>Hermatomyces tectonae</i>	99%	87.55%	NR_154079.1	
	<i>Atrocalyx bambusae</i>	100%	87.30%	NR_153559.1	
	<i>Muritestudina</i> <i>chiangraiensis</i>	91%	89.33%	NR_156402.1	
	<i>Lophiostoma cynaroidis</i>	100%	87.98%	KR909173.1	
G	<i>Talaromyces gossypii</i> / <i>Penicillium gossypii</i>	100%	96.12%	NR_147423.1	<i>Aspergillaceae</i> sp. 1
	<i>Talaromyces</i> <i>trachyspermus</i>	100%	97.60%	EU076917.1	
	<i>Talaromyces assiutensis</i>	100%	97.41%	KR909179.1	
	<i>Paecilomyces tenuis</i>	100%	97.23%	EU004812.1	
	<i>Talaromyces assiutensis</i>	100%	97.41%	KJ207415.1	
	<i>Talaromyces</i> <i>trachyspermus</i>	100%	97.23%	MH790228.1	

H	<i>Talaromyces gossypii</i> / <i>Penicillium gossypii</i>	97%	92.41%	NR_147423.1	<i>Aspergillaceae</i> sp. 2
	<i>Paecilomyces tenuis</i>	97%	93.89%	KX621968.1	
	<i>Talaromyces assiutensis</i>	92%	95.42%	KP055599.1	
	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	97%	93.55%	LC317798.1	
	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	92%	95.02%	GQ365160.1	
I	<i>Aspergillus cejpui</i>	98%	91.03%	NR_159605.1	<i>Eurotiales</i> sp.
	<i>Aspergillus clavatus</i>	98%	85.47%	NR_121482.1	
	<i>Aspergillus thermomutatus</i> / <i>Aspergillus fischeri</i>	98%	85.50%	NR_137481.1	
	<i>Aspergillus clavatonanicus</i>	98%	85.37%	NR_135410.1	
	<i>Aspergillus apicalis</i>	98%	85.47%	MH861335.1	
	<i>Aspergillus pallidus</i>	98%	85.47%	MH858991.1	
	<i>Aspergillus longivesica</i>	98%	85.18%	NR_135411.1	
J	<i>Aspergillus sydowii</i>	99%	99.22%	MK267403.1	<i>Aspergillus</i> sp. 2
	<i>Aspergillus sydowii</i>	99%	99.22%	KY948068.1	
	<i>Aspergillus versicolor</i>	99%	99.22%	LC431696.1	
	<i>Aspergillus sydowii</i>	99%	99.22%	MH398045.1	
	<i>Aspergillus versicolor</i>	99%	99.22%	MF537651.1	
	<i>Aspergillus nidulans</i>	99%	99.22%	LT745390.1	
	<i>Aspergillus sydowii</i>	99%	99.22%	MF033504.1	
K	<i>Aspergillus sydowii</i>	100%	99.22%	KY948068.1	<i>Aspergillus</i> sp. 3
	<i>Aspergillus sydowii</i>	100%	99.22%	MK267403.1	
	<i>Aspergillus versicolor</i>	100%	99.22%	LC431696.1	
	<i>Aspergillus sydowii</i>	100%	99.22%	MH801880.1	
	<i>Aspergillus versicolor</i>	100%	99.22%	MF537651.1	
K3	<i>Aspergillus sydowii</i>	100%	99.41%	KY948068.1	<i>Aspergillus</i> sp. 4
	<i>Aspergillus sydowii</i>	100%	99.41%	MK267403.1	
	<i>Aspergillus sydowii</i>	100%	99.41%	MH801880.1	
	<i>Aspergillus versicolor</i>	100%	99.41%	MF537651.1	
	<i>Aspergillus nidulans</i>	100%	99.41%	LT745390.1	

L	<i>Aspergillus sydowii</i>	99%	99.41%	MK267403.1	<i>Aspergillus</i> sp. 4
	<i>Aspergillus versicolor</i>	99%	99.41%	LC431696.1	
	<i>Aspergillus sydowii</i>	99%	99.41%	KY948068.1	
	<i>Aspergillus sydowii</i>	99%	99.41%	MH813340.1	
	<i>Aspergillus sydowii</i>	99%	99.41%	MK371749.1	
L2	<i>Aspergillus sydowii</i>	100%	98.83%	KY948068.1	<i>Aspergillus</i> sp. 5
	<i>Aspergillus sydowii</i>	100%	98.83%	MK267403.1	
	<i>Aspergillus versicolor</i>	100%	98.83%	MF537651.1	
	<i>Aspergillus versicolor</i>	100%	98.83%	KP994296.1	
	<i>Aspergillus nidulans</i>	100%	98.83%	LT745390.1	
M	<i>Penicillium kongii</i>	99%	98.09%	NR_138336.1	<i>Penicillium</i> sp. 1
	<i>Penicillium brevicompactum</i>	99%	98.09%	JN246028.1	
	<i>Penicillium brevicompactum</i>	99%	98.08%	KX664357.1	
	<i>Penicillium brevicompactum</i>	99%	97.90%	MF687191.1	
N	<i>Talaromyces gossypii</i> / <i>Penicillium gossypii</i>	100%	96.15%	NR_147423.1	<i>Aspergillaceae</i> sp. 1
	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	97%	98.49%	MF681543.1	
	<i>Talaromyces assiutensis</i>	100%	97.44%	KM458833.1	
	<i>Paecilomyces tenuis</i>	100%	97.23%	EU004812.1	
	<i>Talaromyces assiutensis</i>	100%	97.25%	KJ207415.1	
	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	100%	97.25%	GQ365160.1	
	<i>Paecilomyces tenuis</i>	99%	97.05%	KX621968.1	
O	<i>Leiothecium ellipsoideum</i>	88%	98.65%	NR_144922.1	Eurotiomycetidae sp.
	<i>Leiothecium cristatum</i>	89%	91.81%	NR_145180.1	
	<i>Xerochrysiium xerophilum</i>	99%	87.64%	NR_154476.1	
	<i>Penicillium malacaense</i>	92%	89.36%	NR_121344.1	
	<i>Monascus purpureus</i>	90%	89.08%	NR_130671.1	
	<i>Neosartorya fischeri</i> / <i>Aspergillus fischeri</i>	99%	88.61%	GU966493.1	

P	<i>Penicillium brefeldianum</i> / <i>Penicillium dodgei</i>	74%	96.51%	NR_138263.1	<i>Penicillium</i> sp. 2
	<i>Penicillium limosum</i>	74%	95.76%	NR_111496.1	
	<i>Penicillium lineolatum</i>	74%	95.02%	NR_111500.1	
	<i>Penicillium reticulisporum</i>	74%	94.78%	NR_121231.1	
	<i>Penicillium levitum</i>	74%	94.78%	NR_111510.1	
	<i>Penicillium janthinellum</i> / <i>Penicillium simplicissimum</i>	74%	96.51%	MH260268.1	
	<i>Penicillium ochrochloron</i>	74%	96.26%	HQ392500.1	
Q	<i>Talaromyces gossypii</i> / <i>Penicillium gossypii</i>	93%	97.46%	NR_147423.1	<i>Aspergillaceae</i> sp. 3
	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	98%	97.77%	MF681543.1	
	<i>Talaromyces assiutensis</i>	96%	97.74%	KX826481.1	
	<i>Talaromyces assiutensis</i>	96%	97.74%	KR909179.1	
	<i>Paecilomyces tenuis</i>	93%	98.83%	EU004812.1	
R	<i>Aspergillus cejpaii</i>	98%	99.81%	NR_159605.1	<i>Eurotiales</i> sp.
	<i>Aspergillus thermomutatus</i> / <i>Aspergillus fischeri</i>	99%	93.93%	NR_137481.1	
	<i>Aspergillus clavatonanicus</i>	99%	93.77%	NR_135410.1	
	<i>Aspergillus longivesica</i>	99%	93.58%	NR_135411.1	
	<i>Aspergillus clavatus</i>	99%	93.55%	NR_121482.1	
	<i>Aspergillus posadasensis</i>	97%	94.02%	NR_137518.1	
	<i>Aspergillus giganteus</i>	99%	93.40%	NR_135403.1	
S	<i>Aspergillus sydowii</i>	95%	99.80%	KY948068.1	<i>Aspergillaceae</i> sp. 2
	<i>Aspergillus sydowii</i>	95%	99.80%	MH270610.1	
	<i>Aspergillus versicolor</i>	95%	99.80%	LC431696.1	
	<i>Aspergillus nidulans</i>	95%	99.80%	LT745390.1	
T	<i>Aspergillus cejpaii</i>	99%	91.65%	NR_159605.1	<i>Eurotiales</i> sp.
	<i>Aspergillus clavatonanicus</i>	99%	86.31%	NR_135410.1	

	<i>Aspergillus thermomutatus / Aspergillus fischeri</i>	99%	86.26%	NR_137481.1	
	<i>Aspergillus longivesica</i>	99%	86.13%	NR_135411.1	
	<i>Aspergillus clavatus</i>	99%	86.06%	NR_121482.1	
	<i>Aspergillus posadasensis</i>	91%	87.82%	NR_137518.1	
	<i>Dichotomomyces cejpui / Aspergillus cejpui</i>	99%	91.65%	EF669956.1	
U	<i>Penicillium ubiquestum</i>	99%	98.49%	NR_121514.1	<i>Penicillium</i> sp. 3
	<i>Penicillium pancosmium</i>	99%	98.11%	NR_121506.1	
	<i>Penicillium nothofagi</i>	99%	97.74%	NR_121518.1	
	<i>Penicillium godlewskii / Penicillium jensenii</i>	99%	97.74%	NR_103658.1	
	<i>Penicillium decaturense</i>	99%	98.11%	KX440173.1	
	<i>Penicillium westlingii</i>	99%	97.92%	MH864319.1	
	<i>Penicillium waksmanii</i>	99%	97.93%	HQ608108.1	
W	<i>Aspergillus spinosus/ Aspergillus fischeri</i>	99%	96.45%	NR_137489.1	<i>Aspergillaceae</i> sp. 4
	<i>Neosartorya spinosa/Aspergillus fischeri</i>	99%	96.45%	EF669940.1	
	<i>Aspergillus fischeri</i>	99%	96.26%	MH856769.1	
	<i>Neosartorya spinosa/Aspergillus fischeri</i>	99%	96.26%	EF669965.1	
	<i>Aspergillus lacinosus</i>	99%	96.26%	NR_137443.1	
	<i>Aspergillus lentulus</i>	99%	96.08%	NR_135407.1	
	<i>Aspergillus fischeri</i>	99%	95.90%	NR_137479.1	
X	<i>Talaromyces gossypii/ Penicillium gossypii</i>	95%	97.47%	NR_147423.1	<i>Aspergillaceae</i> sp. 2
	<i>Paecilomyces tenuis</i>	95%	99.42%	KY316389.1	
	<i>Talaromyces assiutensis</i>	95%	99.42%	KP055599.1	
	<i>Talaromyces trachyspermus</i>	95%	99.22%	MF681570.1	
	<i>Termitomyces aurantiacus</i>	94%	98.83%	GU594649.1	