



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**Análisis de la diversidad de *Vibrio spp.* en diferentes partes del
continente americano incluyendo US, México y la Patagonia chilena**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Biol. Benjamín Cristian Corona Comunidad

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS:

**Dra. Valeria Francisca Eugenia Leopoldina de María de Guadalupe Souza
Saldívar, Instituto de Ecología, UNAM**

COMITÉ TUTORAL:

Dra. Alejandra Citlalli Moreno Letelier, Instituto de Biología, UNAM

Dr. Luis David Alcaraz Peraza, Facultad de Ciencias, UNAM

MÉXICO, CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**Análisis de la diversidad de *Vibrio spp.* en diferentes partes del
continente americano incluyendo US, México y la Patagonia chilena**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Biol. Benjamín Cristian Corona Comunidad

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS:

**Dra. Valeria Francisca Eugenia Leopoldina de María de Guadalupe Souza
Saldívar, Instituto de Ecología, UNAM**

COMITÉ TUTORAL:

**Dra. Alejandra Citlalli Moreno Letelier, Instituto de Biología, UNAM
Dr. Luis David Alcaraz Peraza, Facultad de Ciencias, UNAM**

MÉXICO, CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE, 2023

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD INSTITUTO DE ECOLOGÍA
OFICIO: CGEP/CPCB/ IE /0770/2023
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que el Comité Académico, del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su reunión ordinaria del día **13 de febrero de 2023**, aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **(Biología Evolutiva)** del estudiante **CORONA COMUNIDAD BENJAMÍN CRISTIAN** con número de cuenta **301189604** con la tesis titulada **“ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD DE VIBRIO SPP. EN DIFERENTES PARTES DEL CONTINENTE AMERICANO INCLUYENDO US, MÉXICO Y LA PATAGONIA CHILENA”**, realizada bajo la dirección de la **DRA. VALERIA FRANCISCA EUGENIA LEOPOLDINA DE MARÍA DE GUADALUPE SOUZA SALDÍVAR**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU
Vocal: DR. LUIS EDUARDO SERVÍN GARCIDUEÑAS
Vocal: DRA. ROCÍO JETZABEL ALCANTARA HERNÁNDEZ
Vocal: DRA. SILVIA PÁJARES MORENO
Secretario: DR. LUIS DAVID ALCARAZ PERAZA
Emergente: DRA. ALEJANDRA CITLALLI MORENO LETELIER

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 26 de septiembre de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA

c. c. p. Expediente del alumno

AGNS/ERR/EARR/err



.Agradecimientos Académicos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, por posibilitar continuar mi formación académica.

Al CONACyT por el apoyo económico a través de la beca 609784.

A mi tutora la Dra. Valeria Souza por ser mi tutora principal de tesis.

A la Dra. Alejandra Citlalli Moreno Letelier por formar parte de mi comité tutorial.

Al Dr. Luis David Alcaraz Peraza por formar parte de mi comité tutorial.

.Agradecimientos Personales

A la Dra. Valeria Souza, que siempre fue una inspiración para querer seguir aprendiendo y mejorando durante la maestría.

A la Dra. Silvia Pajares Moreno por su invaluable contribución a esta investigación. Su generosa ayuda al proporcionarme muestras y cultivos del Pacífico mexicano ya que fue fundamental para mi trabajo. Asimismo, quisiera agradecer a la UNAM por financiar el buque oceanográfico “El Puma”, que permitió la colecta de estas muestras.

A la Dra. Enriquena Bustamante Ortega por otorgarme su ayuda durante mi colecta de muestras en las costas de Sonora.

A los biólogos, Julio Emilio Rosas Reyes y Liliana Rodriguez Garcia por su ayuda en los muestreos que realizaron para obtención de la muestras en pozas de Cuatro Ciénegas Coahuila y en ríos de Oaxaca.

A la Dra. Nataly Bolaño Martínez por las muestras facilitadas de costas de Quintana Roo y su ayuda en el procesamiento de muestras.

A la Lic. Erika Rodríguez de la Oficina de Posgrado que siempre me ayudo a aclarar mis dudas sobre tramites y su buena disposición a todas mis preguntas.

A Doña Silvia, Laura Espinosa-Asuar y Erika Aguirre por su ayuda durante mi maestría.

A todos los miembros del Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental durante mi estancia en la maestría, ya que su consejo y ayuda me ayudó a poder sacar adelante mi proyecto de tesis.

Dedicatoria

A mi mamá gracias por todo

ÍNDICE

. Agradecimientos Académicos	1
. Agradecimientos Personales	2
Resumen	8
1. Introducción	9
. 1.1 Ecología de la familia <i>Vibrionaceae</i>	10
. 1.1.1 Temperatura y salinidad	10
. 1.1.2 Quitina	12
. 1.1.3 Mucina	13
. 1.1.4 Plancton	13
. 1.1.5 Anaerobios facultativos	14
. 1.2 <i>Vibrios marinos</i>	14
. 1.2.1 Sedimento marino	16
. 1.3 Filogenia y taxonomía de la familia <i>Vibrionaceae</i>	17
. 1.3.1 Clado <i>Photobacterium</i>	20
. 1.3.2 Clado <i>Salinivibrio</i>	20
. 1.3.3 Clado <i>Harveyi</i>	20
. 1.3.4 Clado <i>Fisheri</i>	20
. 1.3.5 Clado <i>Cholerae</i>	21
. 1.4 Genómica de la familia <i>Vibrionaceae</i>	21
. 1.5 Patogenicidad en vibrios	23
2. Justificación	25
3. Objetivos	25
. 3.1 Generales	25

. 3.2 Particulares	25
. 3.3 Hipótesis	26
. <i>Ho</i>	26
. <i>Ha</i>	26
. 4. Antecedentes	27
. 5. Metodología	29
. 5.1 Obtención de las muestras	29
. 5.2 Cultivo y obtención de DNA genómico	31
. 5.3 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación	31
. 5.4 Edición de alineamiento: programa UGENE	31
. 5.5 Construcción del árbol filogenético	32
. 5.6 Análisis de la estructura de la comunidad microbiana	32
. 5.6.1 Asignación taxonómica de los OTUs	33
. 5.6.2 Cálculo de la diversidad alfa	33
. 5.6.3 OTUs observados (Sobs)	33
. 5.6.4 Índice de diversidad de Simpson Inverso (1/D)	33
. 5.6.5 Índice de equitatividad (abundancia relativa) de Simpson (E1/D)	33
. 5.6.6 Índice Chao1	34
. 5.6.7 Índice de cobertura de Good (C)	34
. 5.6.8 Diversidad beta	34
. 5.6.9 Delimitación de las zonas oceánicas	34
. 6. Resultados	36
. 6.1 Resultados de vibrios cultivables de latitudes altas y bajas	36
. 6.1.1 Construcción de filogenias	36

. 6.1.2	Abundancia absoluta de especies en ambientes de latitudes altas y bajas	38
. 6.1.3	NMDS de los 11 ambientes de latitudes altas y bajas	39
. 6.1.4	Medida de diversidad alfa de 11 regiones acuáticas	39
. 6.1.5	Árbol filogenético de vibrios con abundancias de los 11 sitios de distinta latitud y ambiente marino	41
. 6.1.6	Proporción de OTUs compartidos entre Continente, Plataforma, Litoral y Océano	42
6.2	Resultados de vibrios continentales cultivables de pozas de Cuatro Ciénegas en los muestreos de los años 2013, 2015, 2016 y 2017	43
. 6.2.1	Obtención de secuencias y construcción de filogenias de Cuatro Ciénegas Coahuila	43
. 6.2.2	Abundancia en muestreos 2013, 2015, 2016 y 2017	44
. 6.2.3	Medidas de diversidad alfa de 9 regiones acuáticas de Cuatro Ciénegas	45
. 6.2.4	Árbol de distancias genéticas de las especies de vibrios en las distintas regiones acuáticas y su abundancia absoluta	47
. 6.2.5	NMDS de los muestreos de Cuatro Ciénegas	48
. 6.2.6	Proporción de OTUs compartidos entre los muestreos de agua y sedimento de Pozas Rojas años 2013 y 2016	49
. 6.2.7	Abundancia de <i>V. cholerae</i> en los distintos ambientes acuáticos estudiados de Cuatro Ciénegas	50
. 6.2.8	Árbol de <i>V. cholerae</i> muestreos 2013, 2015 y 2016	50
. 7.	DISCUSIÓN	52
. 7.1	Discusión de vibrios cultivables de latitudes altas y bajas	52
. 7.1.1	Abundancia y distribución de vibrios en latitudes altas y bajas	52
. 7.1.2	Abundancia y distribución de vibrios continentales, de Litoral, Plataforma y Océano	53
. 7.1.3	Diversidad y abundancia de vibrios en Litoral, Plataforma Continental y Océano	54

. 7.1.4 Biogeografía de especies de vibrios y su posible relación con la temperatura y salinidad	55
. 7.2 Discusión de vibrios cultivables en CCC	56
. 7.2.1 Reducción de diversidad en vibrios cultivables en CCC	56
. 7.2.2 Presencia y abundancia de los distintos grupos de vibrios en los muestreos de los años 2013, 2015, 2016 y 2017 de las pozas de Cuatro Ciénegas Coahuila	56
. 8. Conclusiones	58
. 9. Perspectivas	60
. 10. Bibliografía	61
. 11. Suplemento	78
. 11.1. Tabla S1. Sitios de muestreo de los vibrios marinos y continentales ..	78
. 11.1.1 Mapa de calor de diversidad beta entre las 11 regiones de latitudes bajas y altas	80
. 11.1.2 Comparación de similitud entre los ambientes Continente, Plataforma, Litoral y Océano	81
. 11.1.3 Prueba de diversidad beta con Unifrac entre los ambientes de latitudes bajas y altas	82
. 11.1.4 Prueba de diversidad beta con Unifrac entre los muestreos de Cuatro Ciénegas	83
. 11.1.5 Mapa de calor de diversidad beta entre los muestreos de 2013, 2015, 2016 y 2017 de Cuatro Ciénegas	84
. 11.1.6 Mapa de calor de abundancias de cada región en los muestreos de Cuatro Ciénegas	85

Resumen

Esta tesis fue desarrollada con el objetivo de incrementar el conocimiento sobre la distribución geográfica de la familia *Vibrionaceae*. Para ello, se empleó una delimitación del área de estudio en 11 zonas biogeográficas, 7 de latitudes altas (más alejadas del ecuador), las cuales son Centro-Norte-Continente (CN-CON), Centro-Norte-Litoral (CN-LIT), Centro-Norte-Océano (CN-OCE), Centro-Norte-Plataforma (CN-PLA), Centro-Sur-Océano (CS-OCE), Centro-Sur-Plataforma (CS-PLA) y 5 de zonas bajas (más cercanas al ecuador) que son Polo-Norte-Continente (PN-CON), Polo-Norte-Océano (PN-OCE), Polo-Norte-Plataforma (PN-PLA), Polo-Sur-Océano (PS-OCE) y Polo-Sur-Plataforma (PS-PLA). La estructura y diversidad de los vibrios de cada ambiente acuático fue analizada con la información del gen ARNr 16S de los aislados usando el programa Mothur. Los resultados obtenidos en este estudio muestran una distribución de especies de vibrios diferencial entre las regiones biogeográficas acuáticas marinas de latitudes altas con respecto a la de latitudes bajas, lo cual podría estar relacionado en parte con la variable ambiental de temperatura. La misma estrategia de análisis fue usada para el estudio de los muestreos de agua y sedimento de los años 2013, 2015, 2016 y 2017 de distintas pozas de Cuatro Ciénegas Coahuila, encontrando que hay una estructura espacial y que la diversidad de especies de vibrios varía dependiendo del año del muestreo, dicha estructura y diversidad podría relacionarse parcialmente con el cambio en variables ambientales como la temperatura y salinidad.

Abstract

This thesis was developed with the objective of increasing knowledge about the geographical distribution of the *Vibrionaceae* family. For this, a delimitation of the study area was used in 11 biogeographic zones, 7 of high latitudes (further from the equator), which are Central-North-Continent (CN-CON), Central-North-Litoral (CN-LIT), Central-North-Ocean (CN-OCE), Central-North-Platform (CN-PLA), Central-South-Ocean (CS-OCE), Central-South-Platform (CS-PLA) and 5 low areas (closest to the equator) which are North Pole-Continent (PN-CON), North Pole-Ocean (PN-OCE), North Pole-Platform (PN-PLA), South Pole-Ocean (PS-OCE) and Pole-South-Platform (PS-PLA). The structure and diversity of vibrios from each aquatic environment was analyzed with the 16S rRNA gene information of the isolates using the Mothur program. The results obtained in this study show a differential distribution of vibrios species between the marine aquatic biogeographic regions of high latitudes compared to those of low latitudes, which could be related in part to the environmental variable of temperature. The same analysis strategy was used to study the water and sediment samples from the years 2013, 2015, 2016 and 2017 from different pools in Cuatro Ciénegas Coahuila, finding that there is a spatial structure and that the diversity of vibrios species varies. Depending on the year of sampling, said structure and diversity could be partially related to the change in environmental variables such as temperature and salinity.

1. Introducción

Las bacterias están entre los grupos de organismos más abundantes y con mayor número de integrantes sobre la Tierra (Whitman *et al.*, 1998). Los microorganismos al tener tamaños pequeños, generaciones cortas, dispersión alta y poblaciones grandes, se considera que presentan una distribución cosmopolita (Fenchel y Finlay, 2004; Finlay, 2004). Además de poder distribuirse a nivel global, los microorganismos acuáticos son capaces de activar mecanismos que actúan cuando hay falta de nutrientes orgánicos o cuando hay condiciones ambientales no favorables, como ejemplo la formación de esporas o entrar en un estado de latencia (Urakawa y Rivera, 2006).

El estudio de los patrones de distribución geográfica de los organismos son necesarios para entender que factores le dan forma a las comunidades ecológicas (Gaston y Blackburn, 2000). Se piensa que aun falta por entender cual es el tamaño del área de estudio o escala espacial que debe ser usada para describir la distribución geográfica y estructuración ecológica de los microorganismos (Green y Bohannan, 2006). Algunos factores que han sido propuestos para comprender la estructuración de las comunidades a nivel geográfico son el decaimiento en la similitud entre taxones por aumento de la distancia geográfica que hay entre ellos, los límites de dispersión que presenten y el ancho de nicho de cada taxón (Nekola y White, 1999).

En este trabajo se aborda la distribución geográfica de la familia *Vibrionaceae*, el cual es un grupo de bacterias acuáticas con una amplia distribución alrededor del planeta. Sus integrantes son organismos de forma cilíndrica curva, gramnegativos, anaerobios facultativos, la mayoría poseen flagelos polares y algunos poseen flagelos peritricos (Madigan *et al.*, 2011), son heterótrofos obligados que utilizan una amplia gama de fuentes de carbono para obtener energía (Hunt *et al.*, 2008) y algunos son patógenos para los animales (Nak *et al.*, 2011). En la literatura hay más de cien especies descritas de la familia *Vibrionaceae* (Public Health, 2015; Cole *et al.*, 2009; Gomez-Gil *et al.*, 2014; Sawabe *et al.*, 2013), las cuales han sido ubicadas dentro de los géneros *Photobacterium* (Beijerinck, 1889), *Salinivibrio*, *Enterovibrio* (Thompson *et al.*, 2002), *Grimontia* (Thompson *et al.*, 2003) y *Aliivibrio* (Urbanczyk *et al.*, 2007), una clasificación más reciente (Sawabe *et al.*, 2013) las agrupa en los géneros, *Aliivibrio*, *Echinimonas*, *Enterovibrio*, *Grimontia*, *Photobacterium*, *Salinivibrio* y *Vibrio*.

Este grupo de bacterias constituye una parte relevante de la biomasa del océano y comprende hasta un 10% de la población bacteriana cultivable de los entornos acuáticos (Eilers *et al.*, 2000; Kaneko y Colwell, 1973; Simidu *et al.*, 1980; Yooseph, 2010). En general son mesófilas, quimiorganotrofas y su metabolismo es fermentativo facultativo (Thompson *et al.*, 2004). Las especies de esta familia tienen una amplia

distribución alrededor del mundo en ecosistemas acuáticos incluyendo aguas salobres, columnas de agua de ambientes marinos, estuarios, en sedimentos marinos, incluso en mar profundo (Urakawa y Rivera, 2006). Se pueden encontrar asociados a animales marinos como simbioses o comensales (Nak *et al.*, 2011), también en la superficie de organismos quitinosos, sobre todo en copépodos, se hallan en la capa de moco de corales e incluso en el intestino de humanos y de otros animales (Sawabe *et al.*, 2007).

.1.1 Ecología de la familia *Vibrionaceae*

.1.1.1 Temperatura y salinidad

En el caso de las distintas especies de vibrios su distribución se ha relacionado con factores ambientales como la temperatura superficial del agua, la altura de la superficie del mar, la salinidad, conductividad, turbidez y la cantidad de carbono disuelto (Jhonson *et al.*, 2012). Un metaanálisis realizado con varios estudios publicados sobre vibrios reporta que la temperatura junto con la salinidad del medio en el que se encuentren, determinan generalmente su abundancia en ese lugar y que por otra parte, el fosfato, el nitrógeno o el pH, no son variables ambientales tan determinantes (Takemura *et al.*, 2014), también mencionan que este patrón de abundancia a nivel de grupo no se cumple necesariamente en especies particulares y por tanto se necesita hacer un monitoreo específico de cada una de ellas.

En general la diversidad bacteriana tiende a ser baja en lugares que tienen climas fríos y latitudes altas (Fuhrman, 2009). En el caso de la poca abundancia de especies de vibrios registrada en temporadas frías, puede darse porque entran en un estado en el que son viables pero no cultivables (Nishibuchi y Kaper, 1995, Xu *et al.*, 1982). Con dichas estrategias se estarían protegiendo ante condiciones adversas, lo que a su vez le daría plasticidad ecológica al grupo ya que estarían sobreviviendo a cambios bruscos en el medio hasta que las condiciones ambientales sean mas favorables (Urakawa y Rivera, 2006).

Los estudios que incluyen muestreos en costas Japonesas indican que las especies de *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. campbellii*, *V. harveyi* y *V. natriegens* son predominantes cuando la temperatura del agua de mar esta por arriba de los 20 °C, mientras que el grupo de *V. splendidus* y *V. lentus* son abundantes con temperaturas igual o por debajo de los 20°C (Maeda *et al.*, 2003). Las especies patogénicas como *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* en lagos han presentado menor abundancia a los 15°C y un aumento en su abundancia a los 30°C (Nigro *et al.*, 2011). Los estudios de los autores Jiang, SC y Fu, (2001),

indican una correlación positiva al aumentar la temperatura ambiental, ya que la presencia de *V. cholerae* se incrementó de 5 a 56 veces más aislados en temporada de verano que en temporada de invierno. En Kaneko y Colwell, 1973, *V. parahaemolyticus* puede ser cultivada con temperaturas que van de los 14°C a 19° C, durante el final de la primavera o a inicios de verano, pero no puede cultivarse en meses invernales, sin embargo esta especie sí es encontrada durante todo el año en sedimentos, este patrón de detección también ha sido registrado para la especie *V. vulnificus* en la Bahía Chesapeake (Wright *et al.*, 1996).

En cuanto al estudio del crecimiento de especies de vibrios en cultivos a diferentes temperaturas se tiene que *Vibrio logei*, *V. wodanis* y *V. salmonicida*, crecen en rangos que van de 1°C a 30°C pero su óptimo crecimiento registrado es a los 15 °C (Urakawa y Rivera, 2006). La especie *Photobacterium profundum* crece de 8°C a 12°C, pero no presenta crecimiento a la temperatura de 20°C, se sabe que este organismo se encuentra adaptado al ambiente de mar profundo donde las temperaturas son mas frías (Nogi *et al.*, 1998). Los integrantes del grupo *Vibrio* que pueden crecer de 4°C a 30°C, son *V. lentus*, *V. fortis*, *V. hepatarius*, *V. pectenocida* y *V. rumoiensis* (Urakawa y Rivera, 2006). Dentro del género *Photobacterium*, las especies *P. iliopiscarium* y *P. indicum* se ha visto que no presentan crecimiento a 30°C (Onarheim *et al.*, 1994; Xie y Yokota, 2004). El organismo *V. tapetis* es el único vibrio adaptado al frío que presenta crecimiento a la temperatura de 4° C, pero no a los 30°C (Borrego *et al.*, 1996). En particular los registros de la especie *V. splendidus* en costas de Canadá, España y Japón muestran temperaturas de crecimiento en cultivos a 4° C (Martin-Kearley y Gow, 1994; Ortigosa *et al.*, 1994; Urakawa *et al.*, 1999). Hay algunas especies que llegan a crecer a temperaturas relativamente altas, por ejemplo *V. cholerae* que puede crecer a la temperatura de 42°C (Urakawa y Rivera, 2006), *Salinivibrio costicola* a los 45°C (Mellado *et al.*, 1996) y *V. diabolicus* aislado de un anélido poliqueto en una ventila hidrotermal en el mar profundo y con temperaturas de crecimiento en laboratorio en el rango de 30°C a 45°C (Raguénés *et al.*, 1997).

En la familia *Vibrionaceae* hay especies que son halófilas que son integrantes del genero *Salinivibrio* y que han sido encontradas en carnes saladas, salmuera, agua salada de estanque y suelos salinos (Urakawa y Rivera, 2006), incluso la especie *Salinivibrio costicola* fue usado como un modelo de bacteria halófila para estudiar el fenómeno de osmorregulación y otros mecanismos fisiológicos (Mellado *et al.*, 1996), encontrando que *S. costicola* tiene un crecimiento óptimo en un promedio de 10 gramos de sal en un litro de agua. La salinidad junto con la temperatura es una variable ambiental que se ha visto influye en los patrones de la abundancia de los vibrios en un medio acuático (Hsieh *et al.*, 2007; Takemura *et al.*, 2014). Los vibrios de distintos cuerpos de agua salobres y de ambientes marinos se ha visto que contribuyen a distintos ciclos de nutrientes (Farmer, 2006; Lin *et al.*, 2018;Thompson *et al.*, 2004) como se vera mas adelante.

Se ha planteado que la historia evolutiva de las especies de la familia *Vibrionaceae* se ha dado en ambientes marinos, ya que este grupo requieren de sodio para poder crecer (Urakawa y Rivera, 2006), pero las especies *Vibrio cholerae*, *V. mimicus*, *V. metschnikovii*, *V. fluvialis* y *V. furnissii* del clado *Cholerae* son capaces de crecer en ambientes con concentraciones bajas de NaCl incluso en concentraciones de NaCl del 0% (Farmer y Hickman-Brenner, 1992; Baumann *et al.*, 1980; Farmer, 2006). La especie *V. cholerae* puede crecer en agua con baja salinidad si la temperatura es relativamente alta y si los nutrientes orgánicos están presentes en altas concentraciones (Urakawa, 2006) pero aislados de vibrios oceánicos son sensibles a las variaciones de salinidad (Simidu y Tsukamoto, 1985), se tienen registro de bacterias que requieren Na⁺ para crecer y no morir por falta de nutrientes (Fujiwara-Nagata y Eguchi, 2004). Aunque las especies de *Photobacterium* tienen una gran distribución en ambientes marinos no son comunes en ambientes continentales salobres y de agua dulce, muchos aislados solo han sido encontrados en el océano o en mariscos (Dalgaard *et al.*, 1997), salvo el caso de *Photobacterium* que ha sido aislado en el oasis de Cuatro Ciénegas, en Coahuila (Vázquez-Landa *et al.*, 2020).

.1.1.2 Quitina

La quitina es un polisacárido que se encuentra compuesto de unidades repetidas del monómero N-acetilglucosamina (Beier y Bertilsson, 2013). Es muy abundante en el planeta, lo pueden producir gran cantidad de organismos marinos y se encuentra en insectos, en exoesqueletos de crustáceos, en copepodos y en larvas invertebradas (Beier y Bertilsson, 2013; Urakawa y Rivera, 2006). Se sabe que es una abundante fuente de carbono, nitrógeno y energía para microorganismos marinos (Lin *et al.*, 2018). Las bacterias quitinolíticas son las principales responsables de la degradación y reciclaje de la quitina en la naturaleza (Markov *et al.*, 2015; Lin *et al.*, 2018), el poder descomponer la quitina la tienen muchos grupos bacterianos (Urakawa y Rivera, 2006). Hay muchas especies de vibrios que también pueden degradar la quitina (Lin *et al.*, 2018; Meibom *et al.*, 2004), incluso muchas de ellas la usan como su única fuente para obtener carbono, un ejemplo es *V. cholerae*, *V. Harveyi*, y *V. furnissii* (Meibom *et al.*, 2004; Defoirdt *et al.*, 2010; Li y Roseman, 2004).

La división celular, la quimiotaxis y la formación de biofilms son características que se asocian a la actividad de degradación de quitina en bacterias (Markov *et al.*, 2015). Los vibrios al crear biofilms en superficies quitinosas ven afectadas muchas otras funciones biológicas, las cuales les pueden permitir un estilo de vida diferente al planctónico ya que le confiere la posibilidad de adherirse a distintas superficies tanto bióticas como abióticas (Flemming, 2010). Se han registrado más genes de quitinasa en especies de vibrios en comparación con otras bacterias

marinas y se sabe que solo dos de estos genes existían en el ancestro común más reciente de la familia *Vibrionaceae* por lo que se ha postulado que el éxito y la divergencia de la familia *Vibrionaceae* en ambientes acuáticos se ha relacionado a las quitinasas que portan (Lin *et al.*, 2018), esto se sustenta en la idea de que, cuando una familia de genes aumenta en el tiempo es porque dicha familia se encuentra involucrada a nivel adaptativo en esa especie (Karlsson y Stendlid, 2009).

.1.1.3 Mucina

La mucinasa es una proteasa alcalina que degrada tanto proteínas como glicoproteína y su producción en *V. cholerae* y otras bacterias es importante para penetrar la barrera de la mucosa que recubre el epitelio gastrointestinal durante una infección (Schneider y Parker, 1982).

.1.1.4 Plancton

El crecimiento de los vibrios puede ser promovido por el fito y el zooplancton, ya que sirven como una fuente de materia orgánica (Eiler *et al.*, 2007; Mourino-Pérez *et al.*, 2003) y por otra parte les proporciona superficies para poder adherirse (Kaneko y Colwell, 1975; Tamplin *et al.*, 1990). El zooplancton alberga en promedio más vibrios cultivables que el fitoplancton (Simidu *et al.*, 1971; Simidu *et al.*, 1977; Sochard *et al.*, 1979). Se ha visto que la cantidad de aislados bacterianos dentro de copepodos se mantiene constante a lo largo de las estaciones que la cantidad de bacterias externas varia con la temperatura del agua y que el recuento de colonias de especies de vibrios cultivables puede alcanzar un máximo de 10^9 células/g de peso húmedo de plancton y que este recuento es más alto que el detectado en la columna de agua circundante, 10^2 células/ml (Kaneko y Colwell, 1973). Las especies de vibrio pueden usar como estrategia para sobrevivir a la depredación por parte de nanoflagelados heterótrofos, hacer lo que muchos microorganismos hacen, es decir adentrarse en el tracto digestivo de peces e invertebrados marinos para mantenerse a salvo (Urakawa y Rivera, 2006; Sochhard *et al.*, 1979). Los vibrios que se encuentran en la flora intestinal de copepodos y pueden ser liberados al medio por medio del excremento, esto les sirve a los vibrios para distribuirse en varios lugares de la columna de agua, en sedimentos de estuarios y en océanos (Sochhard *et al.*, 1979).

.1.1.5 Anaerobios facultativos

Los miembros de la familia *Vibrionaceae* son anaerobios facultativos (Youngren-Grimes et al., 1988) lo cual amplía su rango de nicho al poder crecer en presencia y ausencia de oxígeno. Además presentan dos patrones de fermentación: fermentación ácido-mixta y fermentación 2,3-butanediol (Urakawa y Rivera, 2006), lo cual puede ayudar a la identificación taxonómica entre especies, tales como *V. cholerae* y *V. mimicus* (Farmer y Hickman-Brenner, 1992). En la fermentación ácido-mixta se produce el ácido acético, ácido láctico, ácido succínico, CO₂ y H₂ y en la fermentación de tipo butanediol los productos principales son butanediol, etanol, CO₂ y H₂, además de pequeñas cantidades de ácido (Urakawa y Rivera, 2006). Las especies de vibrios se encuentran en sedimentos marinos y podrían tener un papel importante en la descomposición de materia orgánica vía ruta fermentativa, de esta forma dentro de esos ambientes se podría obtener la formación de pequeñas moléculas orgánicas como el lactato, butirato, propionato, acetato, formato, H₂ y CO₂ compuestos que son el principal sustrato para la reducción del sulfato y esto a su vez serviría para producir metano por las bacterias metanógenas (Urakawa y Rivera, 2006).

.1.2 Vibrios marinos

Los biomas donde se pueden encontrar los géneros de vibrios es similar al de otras *Gamaproteobacterias* como *Pseudomonas*, *Moritella*, *Colwellia*, las cuales se pueden encontrar en ambientes marinos o *Halomonas* que solo presenta especies marinas (Poli et al., 2017; Urakawa et al., 1998; Urakawa y Rivera, 2006). Hay varias especies de vibrios que pueden duplicar sus poblaciones rápidamente comparándolas con otras bacterias marinas ya que crecen muy rápido un ejemplo es el caso de *Vibrio natriegens* teniendo un tiempo generación de menos de 10 minutos (Eagon, 1962). En promedio el número de copias, de 7 a 15 del gen ARNr 16S en vibrios es tres veces mayor que en bacterias marinas el cual es alrededor de 3 copias, este número alto de copias puede explicar su rápida tasa de crecimiento (Lin et al., 2018).

En las comunidades microbianas de los océanos del mundo se encuentran los mismos taxones, pero su abundancia relativa en las comunidades varía de acuerdo al tiempo y a la región a la que pertenezcan (Gibbons et al., 2013). Estudios de diferentes regiones oceánicas, han mostrado que la temperatura es la variable de mayor peso para la distribución de procariontes en las distintas capas epipelágicas del océano (Sunagawa et al., 2015). Para el caso de la evolución de los vibrios se cree que las aguas frías oceánicas han jugado un papel importante (Urakawa y Rivera, 2006).

Gracias a los cultivos de vibrios se han descrito varias especies a lo largo de la columna de agua en los mares (Radjasa *et al.*, 200), los distintos estudios muestran que la composición es distinta entre mas profundo sea el muestreo, por ejemplo las especies *Photobacterium angustum* y *V. Splendidus* se pueden encontrar en superficie (0–200 m) y en mar profundo (1000–9671 m) con rangos de temperatura de los 1.6°C a 28.9°C y la especie *Photobacterium phosphoreum* puede encontrarse de los 250 a los 1000 metros con rango de temperatura de 6°C a 25°C (Ruby *et al.*, 1980). En el caso de las abundancias descritas al sur de mar de China y de la Bahía Bengal de vibrios cultivables estas van de 21.3% a 39.2% del total bacteriano en la columna de agua lo cual se considera relativamente alto (Simidu *et al.*, 1982). Por último en cuanto a distribución diferencial de microorganismos se ha reportado que las unidades formadoras de colonias (CFU, por sus siglas en ingles) de bacterias luminosas, relacionadas a vibrios es más abundante en dos capas de agua: entre la superficie y 100m, y entre 250 y 1000m a lo largo de las columnas de agua en mar abierto (Radjasa *et al.*, 2001; Ruby *et al.*, 1980).

Los estudios de vibrios muestran que este grupo son un componente importante de la abundancia de las bacterias cultivables en aguas costeras (Maeda *et al.*, 2003; Wright *et al.*, 1996; Oliver *et al.*, 1982; Chan *et al.*, 1986). En cuanto a la organización y estructuración de las comunidades microbianas planctónicas costeras ya sea por medio de técnicas tradicionales como el paqueo o de siguiente generación como la metagenómica se reporta cambiante debido a diferentes factores como escurrimientos, surgencias, a las partículas en suspensión provenientes de río y a la influencia oceánica (Boeuf *et al.*, 2013; Ameryk *et al.*, 2014; Satinsky *et al.*, 2014; Aylward *et al.*, 2015; Mueller *et al.*, 2015). La abundancia reportada de vibrios cultivables en el caso de comunidades costeras de Estados Unidos con temperaturas promedio de 25.6°C se reporta relativamente alta con un 34.6% del total bacteriano (Oliver *et al.*, 1982). En cuanto a costas con aguas subtropicales de muestreos de Hong Kong de 28°C a 29.5°C se registran abundancias promedio del 12.35% durante los meses de verano lo cual también es un importante componente de del total de muestras cultivables bacterianas (Chan *et al.*, 1986).

Se ha descrito que las comunidades microbianas marinas más diversas, son las encontradas en el fondo marino, las cuales presentan una alta tasa de recambio de poblaciones, debido posiblemente a la variación de sus sustratos, de sus nutrientes y de las condiciones particulares ambientales de este ambiente (Ramette *et al.*, 2009; Miller *et al.*, 2013; Gobet *et al.*, 2014).

Los estudios enfocados en la composición de bacterias constitutivas de los sistemas digestivos de animales marinos muestran que dicha composición es diferente a la encontrada en el agua que los rodea (Simidu y Tsukamoto., 1985; Muroga *et al.*, 1987; Yoshimizu y Kimura., 1976), además las especies de vibrios que son aisladas de sus

hospederos generalmente son las mismas, lo que implicaría que hay una asociación ecológica entre el hospedador y la bacteria, por ejemplo las especies de *V. haliotocoli*, *V. superstes*, *V. gallicus*, *V. neonatus* y *V. ezurae* son comúnmente aislados de los intestinos de abalones de *Haliotis* (Sawabe *et al.*, 2003), los vibrios también pueden encontrarse frecuentemente a la biota normal de animales peces planos (Liston, 1957) al pez *Trachurus japonicus* (Aiso *et al.*, 1968), a los salmonidos (Yoshimizu y Kimura, 1976), a larvas e individuos juveniles de besugo (Muroga *et al.*, 1987), a el cangrejo azul (Davis y Sizemore, 1982), a el camarón *Penaeus merguensis*, a *Litopenaeus vannamei* (Oxley *et al.*, 2002; Vandenberghe *et al.*, 1999) y a ostras (Olafsen *et al.*, 1993). De igual forma se reporta que los tejidos y órganos de tiburones contienen bacterias viables y cultivables (Grimes *et al.*, 1985, 1993).

Los cambios bruscos en la temperatura del agua, el desove, la aparición de lesión y la malnutrición ocasionarían que los animales acuáticos enfermen y que generalmente desarrollen septicemia (Urakawa y Rivera, 2006). Las especies como *V. shiloi* y *V. coralliilyticus* se ha visto que son las causantes de la enfermedad del coral (Ben-Haim *et al.*, 2003), en el caso de *Oculina patagonica* el aumento de virulencia de *V. shiloi* podría darse por un incremento de la temperatura del agua (Kushnaro *et al.*, 1997). En los intestinos de los animales marinos el pH es bajo, se secretan compuestos ácidos y mantienen condiciones microanaerobias o anaerobias que darían condiciones adversas para los vibrios pero se ha visto que los crustáceos en sus hepatopáncreas, hemolinfa y tracto digestivo son hábitats normales para ellos pueden llegar a ser parte de la composición microbiana hasta en un 32% (Davis y Sizemore, 1982). Para los casos en los que los vibrios se encuentran en mayor proporción en los intestinos de los animales acuáticos hay que tomar en cuenta que la materia orgánica en el intestino de animales marinos se encuentra en mas concentrada que en al agua de mar que los rodea (Simidu y Tsukamoto., 1985; Urakawa y Rivera., 2006; Muroga *et al.*, 1987; Yoshimizu y Kimura, 1976). La especie *V. parahaemolyticus* y *V. cholerae* tienen una fuerte asociación ecológica importante con el zooplancton ya que se pueden adherir a los copepodos y a sus huevos logrando prosperar y aumentan su población (Huq *et al.*, 1983). Se piensa que las características patogénicas de vibrios pueden contribuir al control del número de animales acuáticos en las poblaciones naturales ya que estarían actuando sobre individuos estresados de poblaciones de organismos acuáticos que estén afrontando escasez de recursos (Davis y Sizemore, 1982; Urakawa y Rivera, 2006).

.1.2.1 Sedimento marino

Los vibrios generalmente son mas abundantes en las columnas de agua en temporadas cálidas y no tanto en temporadas frías, incluso es mas fácil encontrar unas especies y no otras dependiendo de la estación del año. Sin embargo en sedimentos de costas tienen una alta presencia y

hay especies que pueden ser aisladas de ellos a lo largo de todo el año (Kaneko y Colwell, 1973), de esta forma el sedimento sería un bioma que que funcionaría como reserva de especies cuando la columna de agua no tenga las condiciones optimas para ellas (Urakawa y Rivera, 2006).

.1.3 Filogenia y taxonomía de la familia *Vibrionaceae*

El medio selectivo mas usado para aislar vibrios es el tioglicolato citrato, bilis sacarosa (TCBS). La fermentación de la sacarosa da un cambio de pH ácido en el medio y colonias de vibrio amarillas nos darían cuenta de esta reacción, esta observación junto con otras pruebas bioquímicas nos ayudarían a la identificación de los aislados (Beltrán *et al.*, 1999), sin embargo esto sería tardado y costo. Por otra parte hay que tomar en cuenta que en los vibrios hay pocas características fenotípicas asociadas a cada especie (Hyun-joong *et al.*, 2015), por lo que la ubicación taxonómica de vibrios se ha venido haciendo por medio del marcador molecular ARNr 16S, ya que el proceso para obtenerlo es relativamente rápido y cada vez menos costoso. Este marcador fue usado para construir y proponer un árbol de la vida compuesto de tres dominios, Arquea, Bacteria y Eucaria (Woese *et al.*, 1990; Woese y Fox, 1977). Este marcador molecular es una secuencia altamente conservada, se encuentra en todos los organismos y los genes que codifican, presentan poca transferencia horizontal (Rosselló-Mora y Amann, 2001).

Los tipos de moléculas de ARNr de los procariontes se clasifican por su velocidad de sedimentación en 5S, 16S y 23S, el ARNr 16S tiene ~1.500 pb por lo que es más informativo que el ARNr 5S de solo 120 pb (Abed, 2008). La secuencia del ARNr 16S (Figura 1), posee regiones altamente conservadas y regiones hipervariables y gracias a ello ser usado para relacionar organismos cercanos y alejados filogenéticamente (Hakovirta *et al.*, 2016; Chakravorty *et al.*, 2007).

La identificación de aislados bacterianos por medio del gen ARNr 16S se sigue usando (Vos *et al.*, 2011), incluso cuando se quiere clasificar taxonómicamente genomas completos y también cuando se ha obtenido gran cantidad de amplicones por medio de la metagenómica (Hakovirta *et al.*, 2016). La base de datos rrnDB (Ribosomal RNA Operon Copy Number Database) ha servido para saber que los números de copia del gen ARNr 16S en los genomas bacterianos de distintas especies no son iguales ya que pueden variar de 1 hasta las 15 copias entre ellas (Klappenbach *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2009). Las secuencias que se pueden utilizar como referencia para los genes ARNr 16S se encuentran disponibles en bases de datos públicas como DDBJ (Data Bank of Japan), EMBL (European Molecular Biology Laboratory), GenBank y las RDP (Ribosomal Database Project). Se puede usar un valor de similitud del 97% entre secuencias de ARNr 16S para decir que dos secuencias pertenecen a la misma especie (Stackebrandt y Ebers 2006, Vos *et al.*, 2011), pero en Kim *et al.*, (2014) se

ha observado con pruebas estadísticas que al tener un valor del 98.65% en similitud se puede hablar de que se tiene la misma especie. En realidad no hay un valor consenso para designar a una especie y se han dado valores de similitud de 94.5%, 86.5%, 82.0%, 78.5% ó 75.0% lo cual distinguiría género, familia, orden, clase y filo, respectivamente (Yarza *et al.*, 2014).

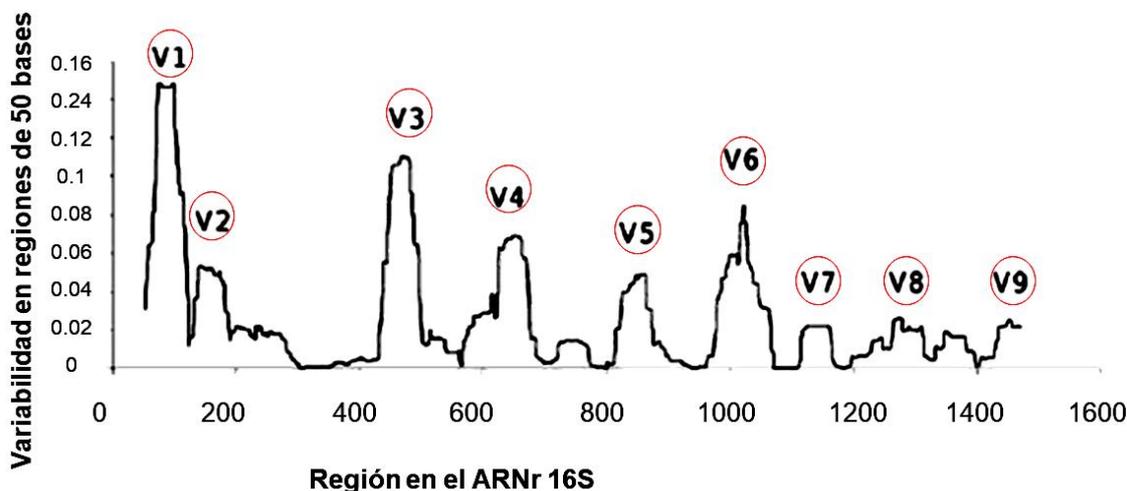


Figura 1. Regiones hipervariables del gen ARNr 16S en *Pseudomonas*. Se observan fluctuaciones en la variabilidad entre las secuencias del gen ARNr 16S alineadas de 79 cepas de tipo *Pseudomonas*. Las regiones hipervariables V1 a V9 conocidas están en color rojo. Tomado y modificada de Bodilis *et al.*, 2007.

Hay otros marcadores taxonómicos para vibrios que se han incorporado los cuales son los genes "housekeeping" (Thompson *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2007). Estos genes se encuentran ampliamente distribuidos en los procariontes y dentro de cada genoma tienen una sola copia, además su secuencia tiene la suficiente extensión para contener información que puede ser usada en la taxonomía molecular y lo suficientemente corta para secuenciarse sin problemas (entre 900 a 2250 pb), estos genes pueden predecir de forma aceptable las relaciones entre genomas completos, esta predicción también se estaría logrando con el marcador molecular ARNr 16S y con la técnica hibridación DNA-DNA, debido a las características citadas estos genes pueden ser usados como marcadores filogenéticos competentes (Zeigler, 2003). Los genes housekeeping *recA*, *rpoA* y *pyrH* se han usado, para formar grupos discretos de vibrios los cuales se han llegado a llamar especies, tomando un corte del 94% de similitud en sus secuencias (Thompson *et al.*, 2005) pero aun con el uso de varios marcadores como *recA*, *gyrB* y *gapA* la clasificación de las especies *V. splendidus* y *V. harveyi* ha resultado confusa (Thompson *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2007). Aun así, hay estudios de vibrios en los que se ha usado hasta ocho genes housekeeping (Sawabe *et al.*, 2007; Sawabe *et al.*, 2013), con los que se ha podido diferenciar, incluso entre especies de vibrios de un mismo clado.

En la reconstrucción de la historia evolutiva de los vibrios hecha por Sawabe *et al.*, (2007) se observan distintos clados de vibrios (Figura 2), ellos identificaron 14 clados y también estimaron los tiempos de radiación para diferentes especies hermanas de vibrios, con base a la tasa de sustituciones de aminoácidos de 8 genes housekeeping, normalizando las tasas con el tiempo de radiación conocido entre las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella entérica* de alrededor de un millón de años tiempo obtenido en Hyma *et al.*, 2005 y Reid *et al.*, 2000. En su trabajo lanzan la hipótesis de que el ancestro común de este grupo estuvo presente hace 600 millones de años.

Se ha planteado que entre 580 a 620 millones de años atrás, al ancestro común de *Salinivibrio*, *Enterovibrio* y *Grimontia* apareció y que este periodo corresponde a la llamada explosión Cámbrica (Sawabe *et al.*, 2007). El ancestro común entre clados distantes como *V. anguillarum*, *V. fisheri* y *V. halioticoli* apareció de acuerdo a Sawabe *et al.*, (2007), entre 360 y 390 millones de años, rango de tiempo recientemente confirmado en Lin *et al.*, (2018) en el cual se menciona a *V. fisheri* como uno de los primeros miembros del grupo en aparecer, hace 385 millones de años, en el periodo Devónico (~ 419.2 a 358.9 millones de años), en este periodo los cefalópodos podrían haber divergido (Tanner *et al.*, 2017) y por otro lado se sabe que los peces alcanzaron cuotas de diversidad y muchos miembros de grupo de Actinopterygii (peces raya) también habrían surgido (Near *et al.*, 2012).

En Lin *et al.*, 2018 se construyó un árbol con el core-genoma de vibrios a partir de proteínas concatenadas de todos los homólogos compartidos por cada especie y postularon que el aumento de los vibrios pudo haber coincidido con la aparición de cefalópodos y el florecimiento de los peces y que esto explicaría la estrecha relación de la bacteria luminiscente marina *Vibrio fisheri* con ellos ya que en algunos casos puede vivir simbióticamente con calamares y peces (Ruby y McFall-Ngai, 1999). Sin embargo esta radiación adaptativa entre vibrios y los organismos marinos debe de ser explorada con más detalle.

Por otra parte, las siguientes especies de vibrios que están estrechamente relacionadas tienen los siguientes estimados de tiempo de especiación: *V. Harveyi* y *V. campbellii*, 39 millones de años, *V. anguillarum* y *V. ordalii*, 56 millones, *V. cholerae* y *V. mimicus* 30 millones, *V. halioticoli* con *V. neonatus*, 23 millones (Sawabe *et al.*, 2007) y *V. splendidus* y *V. tasmaniensis* 17 millones (Sawabe *et al.*, 2007). Estas últimas dos especies tienen genomas que han sido estudiados y han sido altamente relacionados obteniendo un 61% de similitud con DDH (hibridación ADN-ADN) y se ha descrito que ocupan nichos similares (Thompson *et al.*, 2006).

.1.3.1 Clado *Photobacterium*

Las especies de *Photobacterium* forman un solo clado (Sawabe *et al.*, 2007) y dentro del clado se observan cinco subclados. Los hábitats descritos y las fuentes de aislamiento de las especies de *Photobacterium* son aguas de lagos salinos, sedimentos marinos, agua de mar y manteniendo relaciones de simbiosis o patogenicidad con organismos marinos (Labella *et al.*, 2017). La especie *Photobacterium halotolerans* es capaz de crecer en concentraciones que van de 0 a 8% de NaCl, en temperaturas de 4°C a 37°C, con óptimos a 28°C y pH de 5 a 8.5 (Rivas *et al.*, 2006).

.1.3.2 Clado *Salinivibrio*

En el árbol filogenético de Sawabe *et al.*, 2007 hay una separación de *V. calviensis*, *Salinivibrio costicola*, *Enterovibrio norvegicus*, *Enterovibrio corallii* y *Grimontia hollisae* de los demás vibrios, dentro del grupo describe bacterias halófilas obligadas y anaerobias facultativas, sus especies se han logrado aislar de hábitats hipersalinos y alimentos salados. Su crecimiento óptimo oscila entre 7.5% a 10% de sales (López-Hermoso *et al.*, 2017). La especie *S. proteolyticus* crece a salinidades de 1 a 17% de NaCl disuelto, con un crecimiento óptimo al 5% disuelto, además de crecer en rangos de temperatura que van de los 10 °C a los 45 °C con crecimiento óptimo de los 32°C a 35°C y por último pH de 5 a 9.5 con óptimo de los 8 a los 8.5 de pH (Amoozegar *et al.*, 2008).

.1.3.3 Clado *Harveyi*

En el clado *Harveyi* o también llamado core o núcleo, nombrado así para designar a las especies que se encuentran muy relacionadas a *V. Harveyi* (Dorsh y Stackebrandt, 1992; Kita-Tsukamoto *et al.*, 1993). Las especies del grupo *Harveyi* se encuentran en el agua de mar, barro de marismas y animales marinos (Sawabe *et al.*, 2007). La distinción entre cepas y especies a nivel taxonómico en este grupo es difícil (Thompson *et al.*, 1994), lo cual se cree que debe a la recombinación entre especies estrechamente relacionadas, ya que se ha encontrado recombinación incluso dentro de los clados *Halioticoli*, *Harveyi*, *Orientalis* y *Splendidus* (Sawabe *et al.*, 2007).

.1.3.4 Clado *Fischeri*

El clado *Fischeri* es ubicado en una posición intermedia entre los clados *Photobacterium* y *Halioticoli*, por lo que las especies dentro del grupo

Fisherii puede representar un género por sí solo y en cuanto a estas vibrios se pueden encontrar en peces, calamares y en agua de mar (Sawabe *et al.*, 2013).

.1.3.5 Clado *Cholerae*

Las especies de este grupo se encuentran en aguas salobres y marinas, prefiriendo ambientes cálidos (Sawabe *et al.*, 2013; Turner *et al.*, 2014). Hay especies de este grupo que son capaces de estar en el entorno ácido del estómago, lo que les permite alcanzar y colonizar el intestino humano (Gomez-Gil *et al.*, 2014). Las especies que se han registrado con crecimiento en medio sin NaCl, son *V. cholerae* y *V. mimicus* (Sawabe *et al.*, 2013; Gomez-Gil *et al.*, 2014). También se han registrado cepas de *V. cidicii sp. nov.*, en agua de río y *V. navarrensis* en aguas residuales, los cuales son ambientes bajos en sal, estas especies pueden sobrevivir a 40 ° C, temperatura similar a la de vibrios patógenos dentro del cuerpo humano (Sawabe *et al.*, 2013; Dryselius *et al.*, 2007). Hay reportes de valores de DDH mayores al 65% entre *V. cholerae* y *V. mimicus* y entre *V. fluvialis* y *V. furnisii*, lo que sugiere que sus genomas se encuentran muy relacionados (Sawabe *et al.*, 2013). Por último la especie *V. navarrensis* es *V. vulnificus* se encuentran muy cercanas (Thompson *et al.*, 2005; Gomez-Gil *et al.*, 2014).

.1.4 Genómica de la familia *Vibrionaceae*

Los genomas de vibrios están compuestos de dos cromosomas (Huang y Shao, 2017; Farmer *et al.*, 2005; Dryselius *et al.*, 2007), miden entre 4,09 y 6,32 Mb y un tamaño medio de 5,14 Mb, este tamaño es mayor que el de varios genomas secuenciados de bacterias marinas el cual mide en promedio de 3,62 Mb (Lin *et al.*, 2018). Los vibrios cuentan con un pangenoma relativamente grande y un coregenoma que permanece constante, incluso en especies filogenéticamente cercanas lo que estaría mostrando plasticidad genómica (Thompson *et al.*, 2009; Lukjancenko *et al.*, 2014; Lin *et al.*, 2018).

Para Lin *et al.*, (2018) durante la historia evolutiva de los vibrios se han dado eventos de expansión genómicos extremos y se han desarrollado funciones específicas para poder difundirse a escala mundial, de esta forma los vibrios con mayor diversidad de nichos necesitarían pangenomas más grandes. Este efecto de pangenomas grandes y gran diversidad de nichos también ha sido descrito en bacterias marinas del género *Shewanella* (Konstantinidis *et al.*, 2009) y *Glaciecola* (Qin *et al.*, 2014).

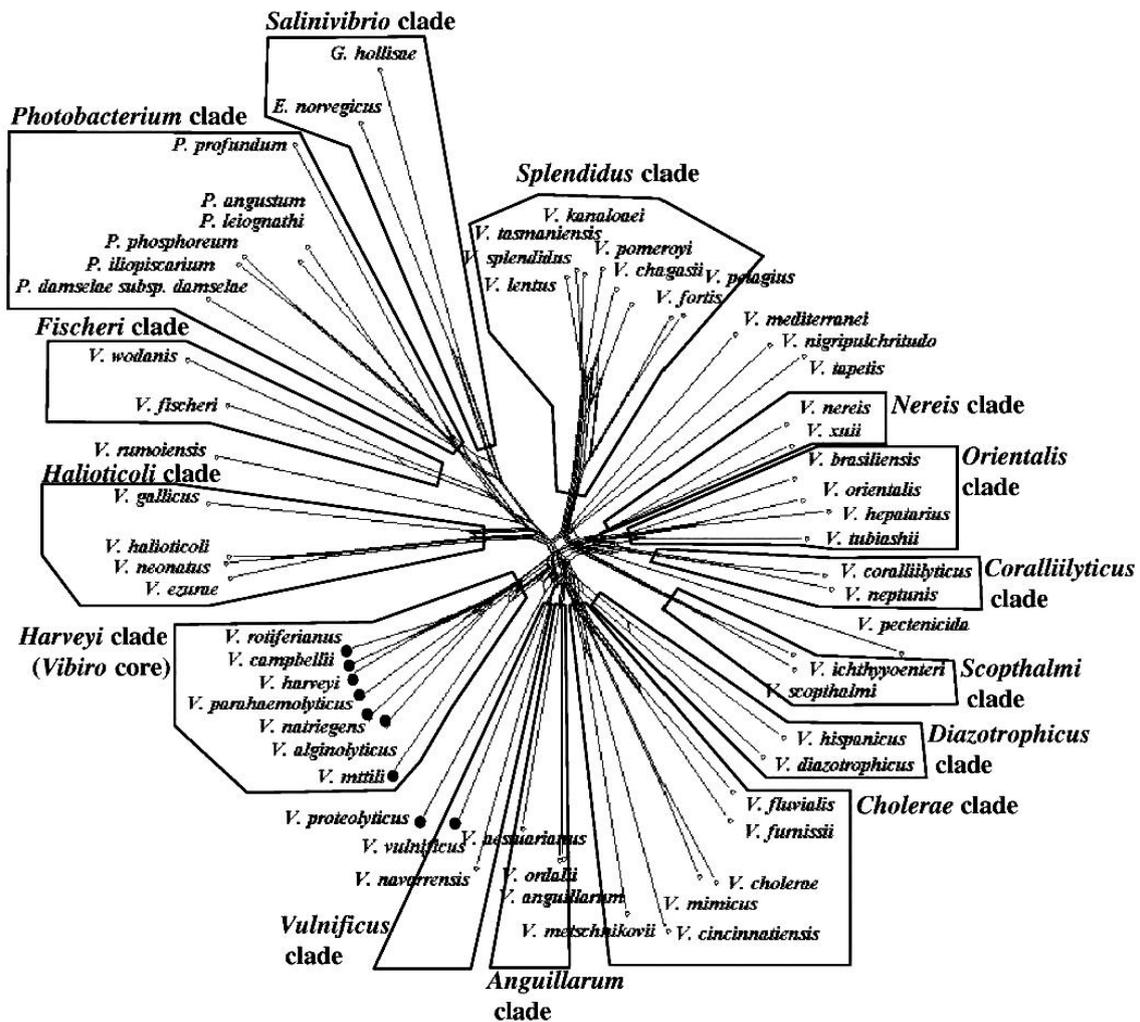


Figura 2. Árbol filogenético basado en las secuencias de los marcadores moleculares *ftsZ*, *gapA*, *gyrB*, *mreB*, *recA*, *topA* y ARNr 16S de 58 taxa. Tomado y modificado de Sawabe *et al.*, 2007. En el árbol definieron a las especies de vibrios como grupos de cepas que comparten una similitud mayor al 95% de similitud de sus secuencias genéticas y mayor al 99.4% de identidad de aminoácidos. Usaron secuencias parciales de *ftsZ*, *gapA*, *gyrB*, *mreB*, *pyrH*, *recA*, *rpoA*, *topA* y 16S rRNA.

Los ambientes marinos que ocupan los vibrios son diversos, esto se atribuye a que poseen genomas relativamente grandes, a que presentan plasticidad genómica, a que tienen sistemas de restricción-modificación (R-M) para combatir DNA externo, CRISPR y a que presentan varias copias del gen ARNr 16S (Lin *et al.*, 2018). Se plantea que los vibrios han tenido una evolución acelerada debido a la plasticidad de sus genomas y a los altos niveles de transferencia horizontal de genes en comparación al de otras bacterias marinas (Hazen *et al.*, 2010; Lin *et al.*, 2018) ya que hasta un 70% de genes xenólogos provendrían de otras *Gammaproteobacterias* a lo largo de toda su historia evolutiva. Además el rápido cambio en la composición de sus genomas ha sido acompañado de modificaciones de la superficie de sus células y metabolitos

secundarios y esto también ayudaría en la competencia con otros organismos (Boucher *et al.*, 2011). Muchas bacterias de vida libre presentan genomas grandes (Konstantinidis y Tiedje, 2004), tal es el caso de las especies vibrios, esto les permite cambiar estrategias para explotar nutrientes en distintos parches, mejorar la búsqueda de recursos por quimiotaxis y obtener polisacáridos complejos, ya que para esto se requeriría complejos enzimáticos variados (Lin *et al.*, 2018).

Es de resaltar que el número de genes de la familia *Vibrionaceae* ha aumentado durante su historia evolutiva y que la primera vez que los eventos de pérdida de genes han sido mayor a la ganancia de genes se dio en el ancestro común más reciente (MRCA) de *V. anguillarum* y *V. mimicus* (Lin *et al.*, 2018). La mayoría de los genes ganados fueron los relacionados a la transcripción, en segundo lugar los que tienen que ver con el transporte y metabolismo de carbohidratos y la mayoría de las pérdidas en el genomas se dieron en genes que se asocian con mecanismos de transducción de señales (Lin *et al.*, 2018), en la mayoría de los genomas de vibrios que ellos analizaron hay genes relacionados a la degradación de quitina, describen que los genes de la quitinasa A, evolucionaron junto con la familia *Vibrionaceae* y que han sido sometidos a una fuerza efectiva purificadora significativa para conservar un estado ancestral. Se ha reportado que los vibrios tienen una propensión a la adquisición de nuevo material genético cuando se adhieren a la quitina y que dicho proceso estaría funcionando como una estrategia para ayudarlos a desarrollarse en un nicho previamente hostil al cambiar ligeramente su contenido de genoma (Meibom *et al.*, 2005).

.1.5 Patogenicidad en vibrios

Dentro del clado *Cholerae* se tiene especies que presentan un alto contenido de GC y bajos requisitos de Na⁺, la mayoría de las especies dentro de este grupo causan diarrea, pero solo en *V. cholerae* hay cepas epidémicas y pandémicas (Sawabe *et al.*, 2013), se ha visto que la mayoría de las cepas ambientales de *V. cholerae* no son patogénicas (Nigro *et al.*, 2011) y que 95% de los miembros de estos serogrupos son negativos para el gen *ctxAB* (Kelly, 1982), *V. cholerae* al codificar la toxina del cólera puede superar la barrera mucosa que recubre el epitelio gastrointestinal al producir una metaloproteasa (Silva *et al.*, 2003; Colwell, 2004). Por otra parte, la especie *V. vulnificus* es una patógena oportunista con una tasa de mortalidad de más del 50% en pacientes con septicemia y que provoca muertes por consumo de productos del mar (Jones y Oliver, 2009).

La especie de *V. parahaemolyticus* se sabe que provoca vibriosis (Hubbard *et al.*, 2016; Makino *et al.*, 2003) al igual que *V. cholerae*, dentro de la especie *V. parahaemolyticus* pocas cepas ambientales son

patogénicas solo el 2% serían portadoras del gen *tdh* (Nishibuchi y Kaper, 1995), que codifica una hemolisina que provoca la destrucción de glóbulos rojos (Miyamoto *et al.*, 1969; Sakazaki *et al.*, 1968).

El reservorio natural de la especie *V. cholerae* es desconocido (Burks *et al.*, 2017), se ha visto que las epidemias de cólera, causadas por la citotoxina *ctx* que codifican tipos de *V. cholerae* O1 y O139, se reporta que suceden en patrones estacionales regulares (Alam *et al.*, 2006; Mookerjee *et al.*, 2014), su abundancia puede relacionarse con ambientes salinos y cálidos (Turner *et al.*, 2014). Se ha detectado que *V. cholerae* presenta una baja abundancia en aguas marinas de distintas partes del mundo y en lugares como Sudamérica, Australia, Suecia e Italia, pero en estos lugares no presenta brotes de cólera, (Collin y Rehnstam-Holm, 2011; Islam *et al.*, 2013; Schuster *et al.*, 2013; Siboni *et al.*, 2016; Vezzulli *et al.*, 2012). Las *V. cholerae* al poder sobrevivir en ríos y lagos de agua dulce lo que le ayuda a facilitar el contacto con los seres humanos (Rothenbacher y Zhu, 2014). Por último las *V. cholerae* patogénicas tiene la capacidad de persistir en los ecosistemas marinos, se ha reportado que esta especie en entornos donde su abundancia es baja compite fuertemente con otras especies de vibrios (Burks *et al.*, 2017).

2. Justificación

El análisis de la estructura y diversidad de las especies de vibrios en los tres biomas, Mar, Continente y Plataforma Continental, proveerá información esencial, que permitirá comprender mejor la biogeografía del grupo.

El estudio de la estructura y diversidad de las especies de vibrios de aguas oceánicas de latitudes altas mas polares (+35° a +90° y -35° a -90°) y de latitudes bajas mas cercanas al ecuador (+35° a 0° y -35° a 0°), proveerá información esencial que permitirá comprender mejor la distribución geográfica de la familia *Vibrionaceae* y su posible correlación con la variación de temperatura en cada región.

3. Objetivos

.3.1 Generales

Incrementar nuestros conocimientos sobre la biogeografía de la familia *Vibrionaceae*.

.3.2 Particulares

Clasificar los aislados de vibrios de cada uno de los sitios muestreados (Sonora, Coahuila, Quintana Roo, Oaxaca y del Océano Pacifico Oriental Mexicano con el uso del marcador ARNr 16S.

Explorar la estructura genética y estimar la diversidad de especies de los vibrios muestreados de latitudes bajas y altas en ambientes de aguas continentales, plataforma continental y Océano con distintos programas bioinformáticos.

.3.3 Hipótesis

.Ho

La diversidad y distribución de las especies de vibrios será similar en todas las localidades estudiadas, debido a que las bacterias son organismos cosmopolitas de amplio rango ambiental.

.Ha

La diversidad y distribución de las especies de vibrios será diferente en diferentes localidades tanto en áreas marinas como continentales debido tanto a su posición latitudinal como a su temperatura.

.4. Antecedentes

En la familia *Vibrionaceae* hay especies acuáticas ecológicamente importantes y diversas, las cuales han presentado cambios a lo largo de su historia en sus estilos de vida y en varios caracteres que les han permitido ocupar varios nichos (Lin *et al.*, 2018). Los estudios sobre este grupo han sido sobre su abundancia, distribución espacial, temporal, contenido de genes, virulencia (de Nigro *et al.*, 2011), relaciones filogenéticas (Thompson *et al.*, 2005, Thompson *et al.*, 2007, Sawabe *et al.*, 2013; Lin *et al.*, 2018), evolución genómica (Lin *et al.*, 2018) y su diversidad en distintos ambientes acuáticos (Public Helth, 2015; Cole *et al.*, 2009; Sawabe *et al.*, 2013). Ya que es uno de los grupos más conocidos a nivel genético, que presenta una distribución geográfica global con estilos de vida diversos, la familia *Vibrionaceae* ha representado una gran oportunidad para el estudio de la biogeografía bacteriana en general.

En cuanto al estudio de la abundancia de vibrios relacionada al patrón latitudinal ha sido abordado en Wietz, M; *et al.*, (2010), en el se describen patrones biogeográficos a escala global del bacterioplancton marino en general y del genero *Vibrio* en particular a lo largo de 24 estaciones. Ellos reportaron que los vibrios tuvieron una distribución cosmopolita que su abundancia alcanzó su máximo en latitudes bajas, en el muestreo de África ecuatorial (3.2%), mientras que mostraron abundancias más baja en latitudes altas, en los muestreos de las Azores y el Mar Caribe donde tuvieron solo un 0.3% de abundancia, con un promedio global en su estudio de 1.5% (1.3×10^4 células ml⁻¹).

Otro estudio abundancia de vibrios pero relacionado a la cercanía a la costa de cuerpos de agua es el estudio de Nigro *et al.*, (2011), en el reporta que la variación de abundancia relativa de vibrios esta relacionada a la distancia que presenten a la costas de lagos y que posiblemente los gradientes orgánicos e inorgánicos a lo largo de las distintas profundidades del lago den origen a esta variación, ya que se tendría un enriquecimiento de nutrientes cerca de la costa debido a flujos bentónicos, escorrentías de aguas pluviales o el bombeo de aguas contaminadas (Nigro *et al.*, 2011).

Al tratar de encontrar el porque hay cierta diversidad de bacterias en determinados ambientes con ciertos recursos en esos ambientes, se ha visto que incluso los grupos que son filogenéticamente cercanos pueden tener características ecológicas diferentes (Fraser *et al.*, 2009), este patrón se describe en Hunt *et al.*, 2008, ellos describen una división de recursos entre poblaciones costeras de vibrios que coexisten en la columna de agua, encontraron una separación de cepas provenientes de muestras con ambientes ecológicos distintos, concluyendo que la estructura filogenética de las poblaciones ecológicamente diferentes se corresponde a un hábitat determinado y que incluso hay altos niveles de

especialización para algunos vibrios, por ejemplo la especie *V. ordali* se encuentra sólo como células de vida libre, mientras que otras especies son más generalistas y otras pueden colonizar una amplia variedad de superficies, incluyendo partículas orgánicas y Zooplancton en la columna de agua. En Hunt *et al.*, (2008) mencionan que según sus observaciones las poblaciones de vibrios son muy divergentes entre sí y que cada especie de vibrio contaría con ciertos límites ecológicos específicos. Pero también encuentran que *V. splendidus* es una especie que se divide en muchas subpoblaciones muy relacionadas a nivel genético entre sí, pero con distintas preferencias ecológicas.

.5. Metodología

.5.1 Obtención de las muestras

En este estudio se trabajó con cepas de vibrios colectadas de distintos cuerpos de agua continentales y marinos de México, además de secuencias de la base de datos del NCBI (Tabla 1, Figura 3 y Figura 4). En la sección de suplementos se encuentra la Tabla 1S, con los registros de cada muestreo en cuanto a latitud, longitud, región, zona, bioma y temperatura. Las colectas de muestras de agua de Sonora, Coahuila, Quintana Roo y Oaxaca, se colectaron con ayuda de tubos Falcón BD estériles de 15 ml sumergiéndolos 20 cm sin remover el sedimento, abriendo y cerrándolo dentro del agua. Los aislados en el Océano Pacífico Oriental Mexicano se obtuvieron a través de colectas de agua de mar por medio de botellas Niskin de 10 L desplegadas en la roseta durante una campaña oceanográfica en el buque “El Puma” (UNAM), 42 de Cuatro Ciénegas Coahuila, 59 de costas de Quintana Roo, 17 del Estrecho del Infiernillo en el estado de Sonora y 60 en ríos de Oaxaca (de las 60 secuencias obtenidas de ARNr 16S, ninguna pertenece a la familia *Vibrionaceae*).

A nivel bibliográfico se obtuvieron 178 aislados de Pozas Rojas, Churince y la Becerra de Cuatro Ciénegas (Rodríguez-García., 2017; Vázquez-Landa *et al.*, 2020), 226 secuencias de aislados de vibrios colectados a lo largo del mar en 24 estaciones de latitudes altas con temperaturas promedio de 11.6°C y bajas con temperaturas promedio de 24.1°C del artículo de Gram *et al.*, (2010) y por último las secuencias de India y Corea se obtuvieron del Popset del NCBI. La temperatura (°C), salinidad (ppt) y pH para el muestreo de Cuatro Ciénegas Coahuila del 2017 se tomaron con la sonda multiparamétrica Hydrolab.

Muestreo	Año	N°Secuencias	Citas y colectores
LAGO CHEONGPYEONG, KOREA	2019	2	Popset:1275552463
CUATRO CIÉNEGAS, MÉXICO	2017	42	Rosas Reyes 2017*
SONORA, MÉXICO	2017	17	Corona Comunidad*
CUATRO CIÉNEGAS, MÉXICO	2016	46	Rodríguez García 2017*
QUINTANA ROO, MÉXICO	2016	59	Bolaño Martínez 2016*
PACÍFICO MEXICANO	2016	63	Pajares Moreno 2016*
CUATRO CIÉNEGAS, MÉXICO	2015	29	García-Ulloa 2015*
LUNARLAKE, INDIA	2014	2	Popset:674655246
MONOLAKE, INDIA	2014	2	Popset:613399460
CUATRO CIÉNEGAS, MÉXICO	2013	103	Rosas Landa 2017*
RIO MANDОВI, INDIA	2012	1	Popset:1150313302
MUESTREO GLOBAL GALATHEA	2010	226	Gram <i>et al</i> 2010

Tabla 1. Muestreos utilizados para esta tesis. Los muestreos marcados con (*) pertenecen a colectas hechas por mí o facilitadas por otros

investigadores el resto son secuencias obtenidas de la base de datos del NCBI.



Figura 3. Áreas de muestreo en México de este estudio.



Figura 4. Áreas de muestreo de secuencias de ARNr 16S de distintas especies de vibrios obtenidos del NCBI: Gram, L., et al (2010), PopSet 674655246; PopSet 613399460; PopSet 1275552463.

.5.2 Cultivo y obtención de DNA genómico

La siembra de las muestras de agua del Pacífico Mexicano (2016), Quintana Roo (2016), Sonora (2017), Oaxaca (2017) y Cuatro Ciénegas (2017) fue en cajas Petri con medio selectivo Tiosulfato-Citrato-sal Biliar-agar (TCBS) y medio de cultivo Luria-Bertani (LB). Para la siembra de agua ambiental se agregaron 1000 µl al medio TCBS. Las siembras obtenidas de Cuatro Ciénegas, Oaxaca, Quintana Roo y Sonora fue con incubación de 24 a 48 horas con temperatura de 28°C y en el caso de las siembras obtenidas en el Pacífico Mexicano con incubación de 24 a 48 horas a 25°C.

Las colonias aisladas del medio TCBS o LB fueron seleccionadas para su crecimiento en medio líquido LB. La incubación de las muestras fue a temperatura ambiente (24°C) en agitación por 24 horas. Las cepas que se obtuvieron de cultivos en medio líquido LB, se almacenaron en tubos de cepario con glicerol al 80% almacenados a -80°C.

La extracción del DNA se realizó con el kit DNeasy Blood and Tissue (Qiagen) siguiendo las instrucciones del fabricante.

.5.3 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación

Para amplificar el gen ARNr 16S por medio de la PCR, se usaron los primers universales 1492R (5'TACGGYTACCTTGTTACGACTT3') y 27F (5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') y se agregaron 0.5 µl de ADN genómico a la solución Master-Mix. Se utilizó un termociclador Veriti 96 Well, con los siguientes ciclos: un ciclo por tres minutos a 94°C; 30 ciclos de un minuto a 94°C, un minuto a 52°C y un minuto a 72°C; y un ciclo por cinco minutos a 72°C. Al finalizar la temperatura se mantuvo a 4°C. Se observó el producto de la PCR mediante la electroforesis en gel de agarosa al 1%, se cargaron 2 µl de producto de la PCR en cada pozo del gel. Al visualizar el gel utilizando un transiluminador, se pudo identificar la presencia de un único fragmento cuyo peso molecular coincidió con una banda de 1500 pb. Las muestras que resultaron positivas se cargaron en placas con un volumen de 20 µl del producto de PCR de cada muestra y se enviaron por paquetería a MacroGen USA, donde se secuenciación por método de Sanger.

.5.4 Edición de alineamiento: programa UGENE

Los cromatogramas de DNA de la secuenciación de cada muestra con dirección forward y reverse, se usaron para la edición de las secuencias

de ARNr 16S de los aislados ambientales, se usó el programa BioEdit (Hall, 1999), después se realizó un alineamiento múltiple de las secuencias editadas con CLUSTAL 2.1 Multiple Sequence Alignments (Larkin *et al.*, 2007).

El programa UGENE (Okonechnikov *et al.*, 2012) versión de consola UGENE 1.9.8 se usó para la edición del archivo multifasta, el cual contenía las secuencias de los ARNr 16S de los aislados obtenidos de Cuatro Ciénegas Coahuila, Océano Pacífico, Quintana Roo, Sonora y de las secuencias obtenidas bibliográficamente del GenBank, secuencias con numero de acceso FJ457302–FJ457610 de Gram *et al.*, (2010).

.5.5 Construcción del árbol filogenético

El archivo multifasta obtenido con UGENE en formato ClustalW, fue convertido a formato Phylip en línea <http://insilico.ehu.es/tophylip/>. El archivo Phylip se usó como archivo de entrada para el programa jModeltest 2.1.10 v20160303 (Posada, 2008) y poder elegir el mejor modelo evolutivo. El archivo de salida obtenido con jModeltest sirvió como archivo de entrada para el programa PhyML (Guindon *et al.*, 2009) version 3.2, el cual es un programa que está basado en máxima verosimilitud. Por último, el archivo del árbol creado con el programa fue visualizado y editado con el programa FigTree (Rambaut, 2009) version 1.42.

.5.6 Análisis de la estructura de la comunidad microbiana

Para evaluar cual es el grado de similitud entre las comunidades de vibrios de los distintos ambientes, se realizó un análisis de agrupamiento utilizando el índice Bray-Curtis (Schloss *et al.*, 2009) figura S1, figura S2 con el programa Mothur v.1.22.2 (Schloss *et al.*, 2009) y S3 con el programa Phyloseq v.1.44.0 (McMurdie y Holmes, 2013).

Para evaluar el grado de similitud entre las comunidades de vibrios también se usó el método de Unifrac con el programa Mothur v.1.22.2 (Schloss *et al.*, 2009) el cual incorpora la información filogenética de los taxones (Lozupone *et al.*, 2007) tabla S2, S3 y S4.

En las muestras de los distintos ambientes la diversidad alfa fue calculada por medio de la inversa del índice de Simpson (1/D), cuyos valores pueden variar entre 1 y el número total de OTUs en la muestra (Magurran, 2004). Para el cálculo de este índice, los OTUs fueron definidos al 99% de identidad de secuencia.

.5.6.1 Asignación taxonómica de los OTUs

Con el programa Mothur (Schloss *et al.*, 2009) version v.1.22.2 se creo una matriz de distancias y se definieron los OTUs a distancias menores o iguales a 0.01, agrupando las secuencias utilizando el algoritmo de vecino promedio, después se seleccionó una secuencia representativa de cada OTUs y para cada secuencia representativa se buscó su mejor hit con la herramienta BLAST del NCBI (Wang *et al.*, 2007) con el fin de identificarlas taxonómicamente.

.5.6.2 Cálculo de la diversidad alfa

Con el programa Mothur, se calcularon las siguientes medidas de diversidad: OTUs observados (Sobs), Índice de diversidad alfa de Simpson Inverso (1/D), Índice de equitatividad de Simpson (E1/D), Índice Chao1, el índice de Bray-Curtis y el Índice de cobertura de Good.

.5.6.3 OTUs observados (Sobs)

Cantidad de OTUs observados al agrupar las secuencias de acuerdo con el porcentaje de similitud. En este estudio se utilizó el 99% de similitud.

.5.6.4 Índice de diversidad de Simpson Inverso (1/D)

El índice de diversidad de Simpson es $1 - \sum (pi)^2$ y toma valores entre 0 y 1 donde 1 es la diversidad mas baja y 0 la mas alta, por lo que el recíproco del índice Simpson 1/D (Simpson, 1949) toma valores también entre 0 y 1 pero en este caso el 0 representa la diversidad mínima y 1 la mas alta en una población o comunidad.

.5.6.5 Índice de equitatividad (abundancia relativa) de Simpson (E1/D)

La abundancia relativa de cada especie en la comunidad (Magurran, 2004), el índice E1/D tiene un rango que varía entre 0 y 1 y prácticamente no está influenciado por las especies raras de la comunidad (Krebs, 1999) este índice nos orienta sobre cómo se distribuyen las abundancias de especies en relación con la diversidad de la comunidad. Nos habla sobre la equitatividad ya que al tener valor de 1 todas las especies tienen la

misma abundancia en la población o comunidad, mientras que al tener valor de 0 nos diría que unas pocas poblaciones son muy abundantes mientras otras serían poco abundantes.

.5.6.6 Índice Chao1

Estimador de riqueza de especies, corregido por desvíos Schao1 (Colwell, 2006). Este índice toma en cuenta las los OTUs o especies raras en la muestra, debido a que en muestreo no intensivos es difícil la captura de datos de especies u Otus raros. A los OTUs o especies que fueron observadas una vez se les llama singletons y a las que se observaron dos veces doubletons. De esta forma los singletons y doubletons se utilizan para la estimación de la riqueza total de especies en una población o comunidad.

.5.6.7 Índice de cobertura de Good (C)

El valor obtenido con el índice de cobertura de Good, nos dice que tan profundo fue del esfuerzo de muestreo (Good, 1953). El índice $C = 1 - n_1/N$, toma en cuenta el número de OTUs que fueron observados una única vez sobre el número total de OTUs muestreados.

.5.6.8 Diversidad beta

El índice de Bray-Curtis, calcula la diversidad beta entre muestras, es decir la similitud en la estructura de las comunidades bacterianas (Bray y Curtis, 1957). Este índice toma en cuenta el número de especies u OTUs compartidos y sus abundancias relativas y refleja la similitud real entre comunidades (Bloom, 1981). Un valor de 0 nos dice que las muestras son idénticas en cuanto a composición de OTUs y al tener valor de 1 significaría que las muestras no comparten ningún OTUs o especie.

.5.6.9 Delimitación de las zonas oceánicas

Para ubicar cada sitio de muestreo dentro de Litoral, Plataforma Continental u Océano se utilizó el programa Google Earth Pro versión 7.3.1. Las coordenadas de cada punto de muestreo se ingresaron en el programa y se trazó el perfil de elevación, en el que dicho punto estaba incluido. La plataforma se tomó como la zona adyacente al continente, la

cual presenta una pendiente suave (OHI, 2008), la región Oceánica comienza cuando el borde de la plataforma presenta una pendiente abrupta. En el caso del litoral se tomó como la zona acuática adyacente de 1 hasta 5 metros de la playa y con 0.4 metros hasta 5 metros de profundidad.

.6.Resultados

.6.1 Resultados de vibrios cultivables de latitudes altas y bajas

Se obtuvieron aislados de distintos cuerpos de agua, 63 fueron colectados en el Océano Pacífico Oriental Mexicano, 42 en Cuatro Ciénegas Coahuila, 59 en costas de Quintana Roo, 17 en el Estrecho del Infiernillo en el estado de Sonora y 60 en ríos de Oaxaca. Se clasificaron varios integrantes dentro del grupo *Vibrionaceae* a partir de aislados bacterianos a los que se les secuenció el marcador RNAr 16s. Las especies analizadas en este estudio fueron encontrados en diversos ambientes acuáticos como son, Continente, Litoral, Plataforma Continental y Océano los cuales son ambientes pertenecientes a dos regiones, las de zonas altas, +35° a +90° y -35° a -90°; zonas bajas, +35° a 0° y -35° a 0° (Tabla 2).

REGIÓN	CLAVE	BIOMA	LATITUD	ZONA	n° SECUENCIAS
CENTRO_NORTE	CN_CON	CONTINENTE	0° a +35°	BAJA	120
CENTRO_NORTE	CN_LIT	LITORAL	0° a +35°	BAJA	76
CENTRO_NORTE	CN_OCE	OCÉANO	0° a +35°	BAJA	97
CENTRO_NORTE	CN_PLA	PLATAFORMA	0° a +35°	BAJA	14
CENTRO_SUR	CS_OCE	OCÉANO	0° a -35°	BAJA	87
CENTRO_SUR	CS_PLA	PLATAFORMA	0° a -35°	BAJA	1
POLO_NORTE	PN_CON	CONTINENTE	+35° a +90°	ALTA	5
POLO_NORTE	PN_OCE	OCÉANO	+35° a +90°	ALTA	22
POLO_NORTE	PN_PLA	PLATAFORMA	+35° a +90°	ALTA	19
POLO_SUR	PN_OCE	OCÉANO	-35° a -90°	ALTA	32
POLO_SUR	PS_PLA	PLATAFORMA	-35° a -90°	ALTA	17

Tabla 2. Se muestran las ubicaciones de 490 secuencias analizadas en este estudio (tanto las obtenidas en este estudio como las secuencias obtenidas de la literatura). Las zonas bajas (+35 a 0° y de -35 a 0°) se encuentran más cercanas a la línea del Ecuador, las zonas altas (+35° a +90° y -35° a -90°) se encuentran más cercanas a los polos terrestres.

.6.1.1 Construcción de filogenias

Con la ayuda del árbol filogenético (Figura 5), se describió la distribución genética de los vibrios marinos de latitudes altas y de latitudes bajas, así como de vibrios continentales. Las secuencias obtenidas de latitudes altas aparecen cercanas en el árbol, lo mismo pasa con las secuencias obtenidas de latitudes bajas, ya que hay cercanía entre ellas, las

secuencias continentales aparecen en su mayoría agrupadas en las mismas ramas.

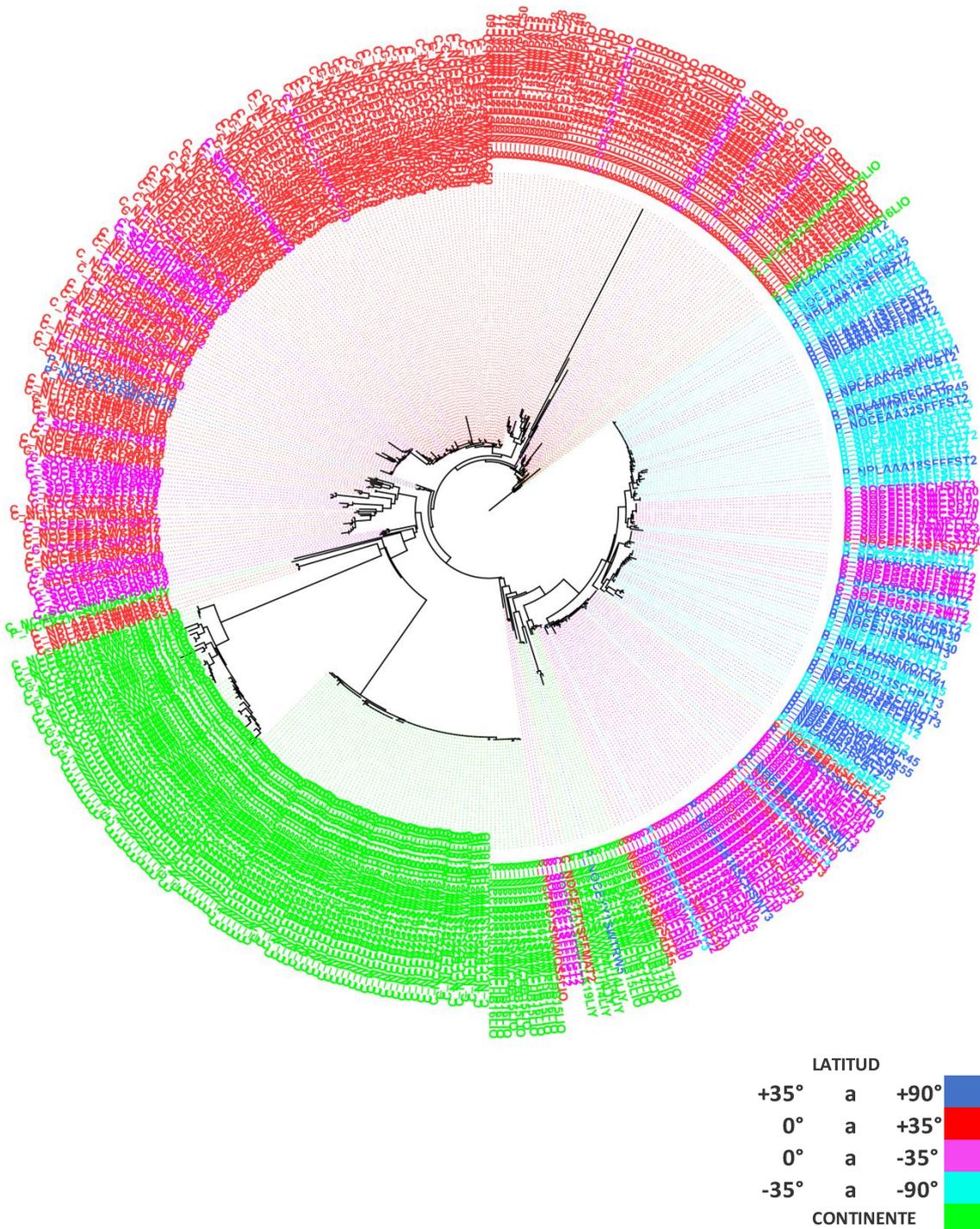


Figura 5. Árbol filogenético de vibrios de latitudes altas (+35° a +90° y -35° a -90°) en color azul marino y cian respectivamente y bajas (0° a +35° y de 0° a -35) en color rojo y rosa respectivamente, las secuencias de vibrios continentales en verde. Este árbol está basado en secuencias parciales del RNAr 16S, obtenido por el método de neighbor joining. Este árbol no tiene grupo externo.

.6.1.2 Abundancia absoluta de especies en ambientes de latitudes altas y bajas

La abundancia absoluta (Figura 6) de especies de vibrios analizados fue diferente en latitudes altas y bajas, en latitudes altas dominó la especie de *V. splendidus* del clado Splendidus tanto en el norte como en el sur, mientras tanto en latitudes bajas se encontró más representación de *V. chagasii* y *V. rotiferanus* del clado Harveyi. La especie *V. chagasii* es el único taxón encontrado en latitudes altas y bajas

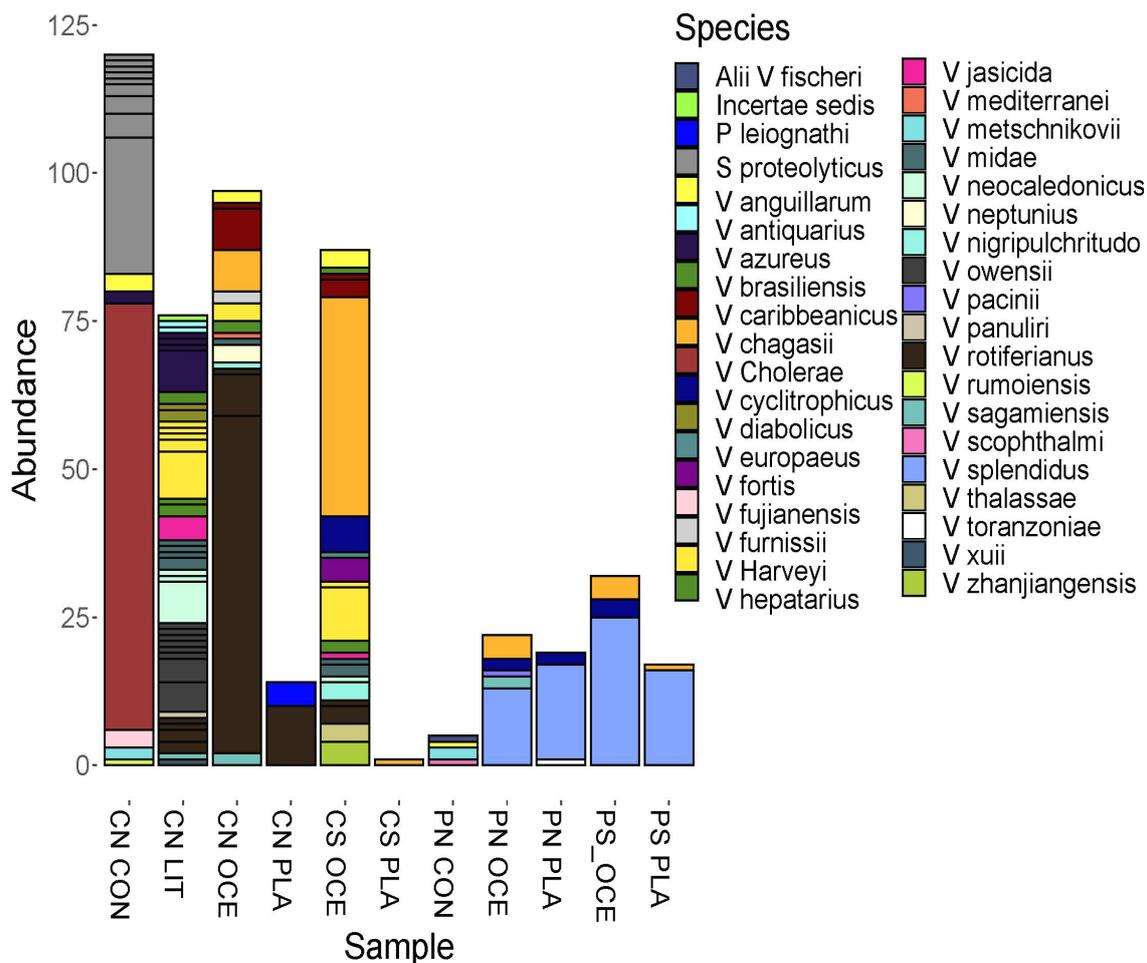


Figura 6. Abundancia absoluta de especies de vibrios en cada uno de los ambientes dentro de este estudio, **LATITUDES BAJAS**: Centro-Norte-Continente (CN-CON), Centro-Norte-Litoral (CN-LIT), Centro-Norte-Océano (CN-OCE), Centro-Norte-Plataforma (CN-PLA), Centro-Sur-Océano (CS-OCE), Centro-Sur-Plataforma (CS-PLA) y **LATITUDES ALTAS**: Polo-Norte-Continente (PN-CON), Polo-Norte-Océano (PN-OCE), Polo-Norte-Plataforma (PN-PLA), Polo-Sur-Océano (PS-OCE) y Polo-Sur-Plataforma (PS-PLA).

.6.1.3 NMDS de los 11 ambientes de latitudes altas y bajas

Hubo mayor cercanía entre los vibrios de ambientes continentales que con los de ambientes oceánicos (Figura 7). De igual forma los cuatro ambientes de latitudes altas se encuentran agrupados a pesar de encontrarse en polos opuestos del globo y los de ambientes oceánicos de latitudes bajas se encuentran cercanos entre ellos, pero no hay un grupo claramente distinguible al menos en esta figura. Los patrones de cercanía entre ambientes se observan similares en la figura S1 y tablas S2 y S3.

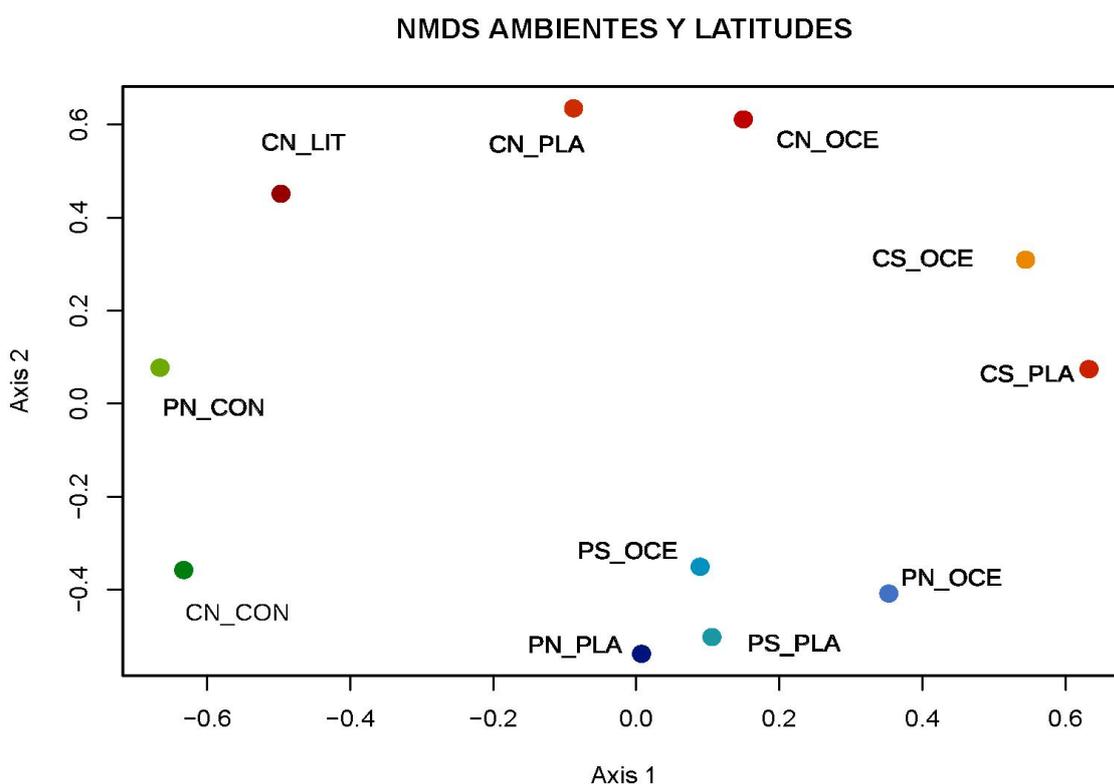


Figura 7. NMDS usando la matriz de distancias de las 490 secuencias de 9 ambientes oceánicos y 2 ambientes continentales de latitudes altas y bajas. LATITUDES BAJAS: Centro-Norte-Continente (CN-CON), Centro-Norte-Litoral (CN-LIT), Centro-Norte-Océano (CN-OCE), Centro-Norte-Plataforma (CN-PLA), Centro-Sur-Océano (CS-OCE), Centro-Sur-Plataforma (CS-PLA) y LATITUDES ALTAS: Polo-Norte-Continente (PN-CON), Polo-Norte-Océano (PN-OCE), Polo-Norte-Plataforma (PN-PLA), Polo-Sur-Océano (PS-OCE) y Polo-Sur-Plataforma (PS-PLA).

.6.1.4 Medida de diversidad alfa de 11 regiones acuáticas

Se observan distintas medidas de diversidad alfa de 11 regiones acuáticas (Figura 8), tanto las de latitudes altas como de latitudes bajas.

La mayor riqueza de OTUs se observa en la región de latitud baja, Centro-Norte-Litoral. Dentro de CN-LIT se puede encontrar a casi la totalidad de integrantes del clado *Harveyi*, también a integrantes del grupo *Orientalis*, *Midae* y especies tales como *V. Neocaledonicus*, *V. panuliri* y *V. anticuarius*. Por otra parte, la región Centro-Sur-Plataforma muestra la menor diversidad, ya que solo se encuentra el OTUs 04 es decir la especie *V. chagasii* del género *Splendidus*.

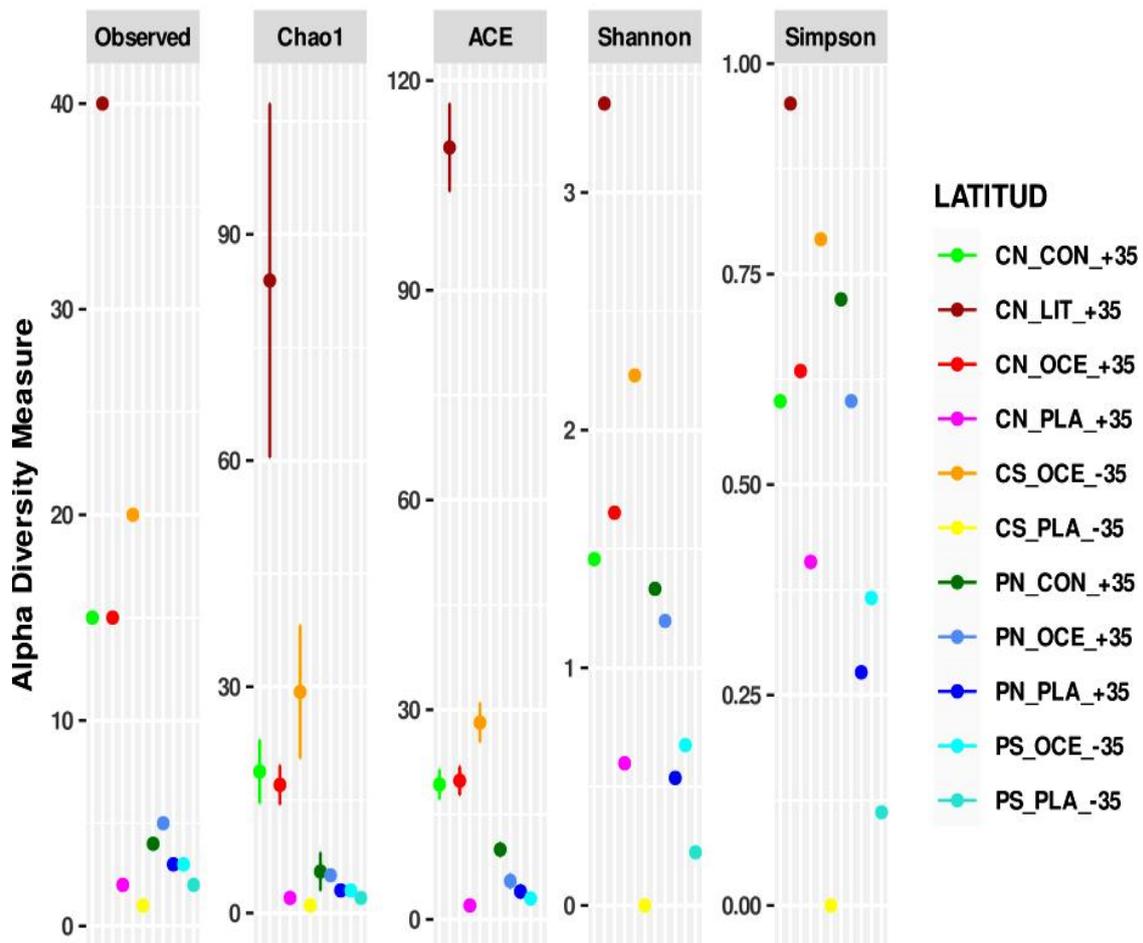


Figura 8. Medidas de diversidad alfa de 11 regiones acuáticas de latitudes altas y bajas, Los ambientes contrastados son en LATITUDES BAJAS: Centro-Norte-Continente (CN-CON), Centro-Norte-Litoral (CN-LIT), Centro-Norte-Océano (CN-OCE), Centro-Norte-Plataforma (CN-PLA), Centro-Sur-Océano (CS-OCE), Centro-Sur-Plataforma (CS-PLA) y para LATITUDES ALTAS: Polo-Norte-Continente (PN-CON), Polo-Norte-Océano (PN-OCE), Polo-Norte-Plataforma (PN-PLA), Polo-Sur-Océano (PS-OCE) y Polo-Sur-Plataforma (PS-PLA).

.6.1.5 Árbol filogenético de vibrios con abundancias de los 11 sitios de distinta latitud y ambiente marino

En el árbol filogenético de géneros (Figura 9), podemos observar que varias de las ramas contienen al grupo *Harveyi*, el cual se encuentra en todos los ambientes pero presentando distintas abundancias en cada uno de ellos. El clado *Salinivibrio* solo se encuentra en el ambiente Continente al igual que el clado *Cholerae* y tienen una presencia significativa en este ambiente con respecto a otros biomas. El taxón más abundante en latitudes altas es el clado *Splendidus*.

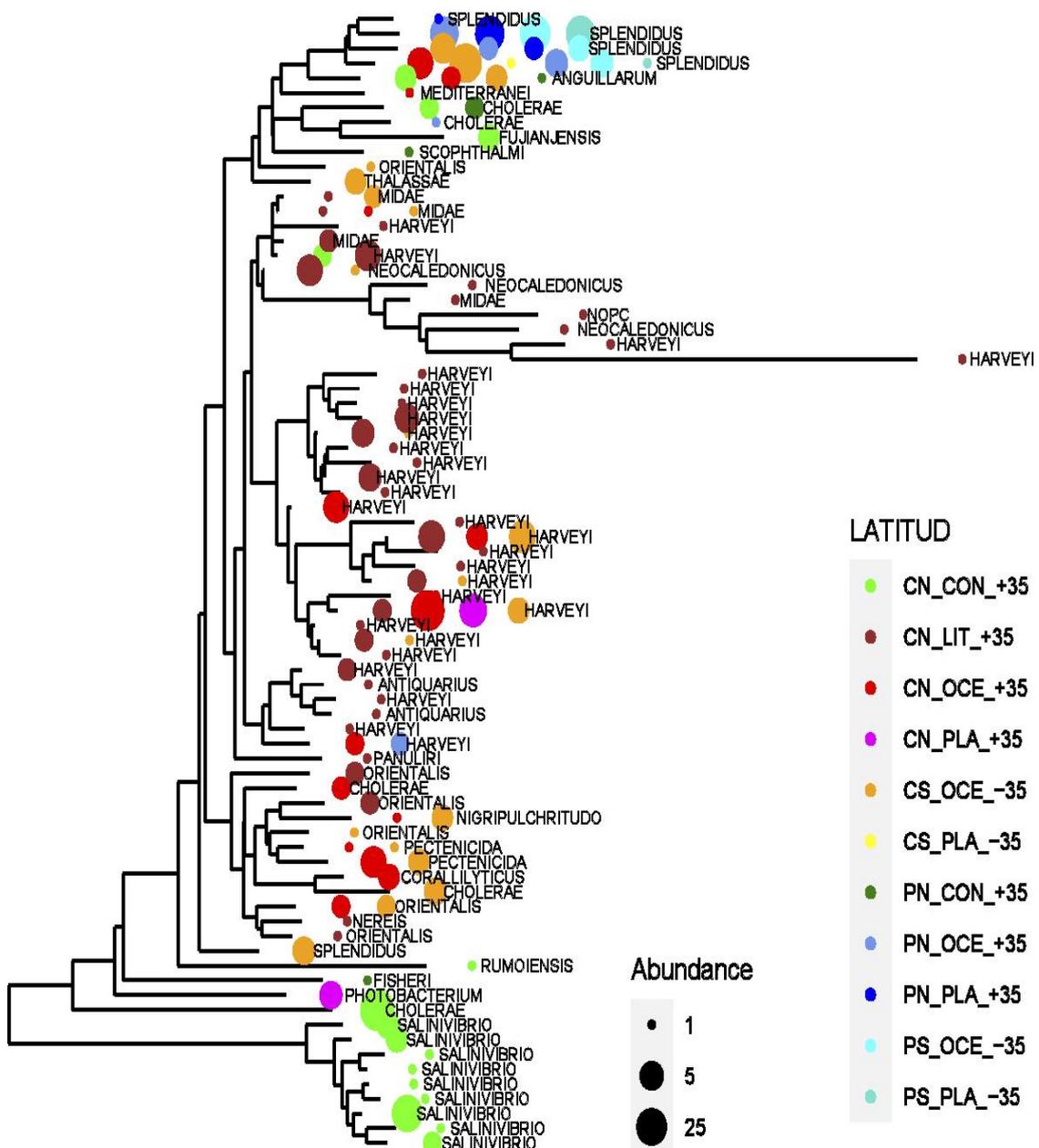


Figura 9. Árbol filogenético construido con ARNr 16S, obtenido por el método de neighbor joining de los clados de vibrios en las distintas regiones acuáticas y su abundancia absoluta.

.6.1.6 Proporción de OTUs compartidos entre Continente, Plataforma, Litoral y Océano

Los muestreos del Continente tienen el 26.3 % de los OTUs (Figura 10), el litoral tiene el 83.9% de los OTUs, el cual es el valor más alto, la Plataforma tiene el 6% OTUs y el Océano tiene 35.2% de OTUs. El Litoral y Océano comparten 10.2 % de OTUs. El Continente y Océano no comparten ningún OTUs, estas dos regiones son las más alejadas entre sí, el mayor número de OTUs compartidos se da entre los ambientes Litoral y Océano con el 10.25 % de OTUs, las regiones Océano y Plataforma comparten 4 OTUs, por último, *V. rotiferanus*, del grupo *Harveyi* (OTUs 02) es compartido entre los ambientes marinos Litoral, Océano y Plataforma.

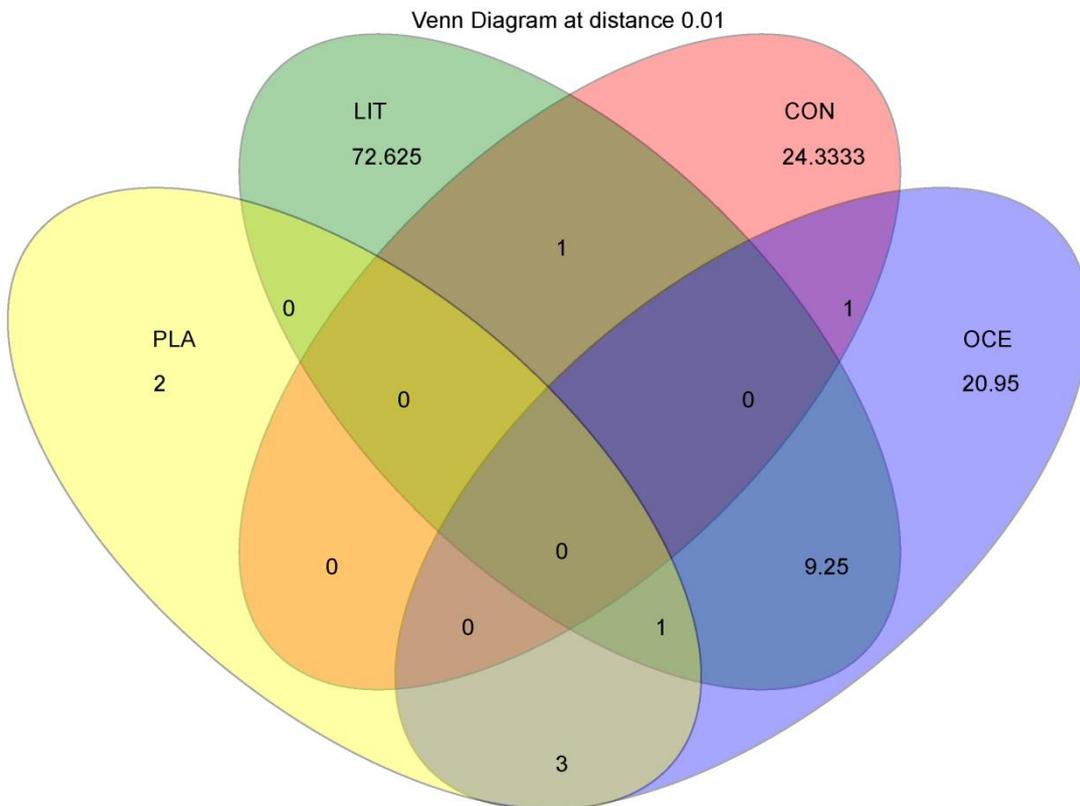


Figura 10. Diagrama de Venn de los OTUs compartidos entre Plataforma, Litoral, Continente y Océano. Realizado con OTUs compartidos entre los distintos ambientes de este estudio. La distancia genética entre secuencias dentro de cada OTUs es igual o menor a 0.01 %, cada ovalo representa un ambiente, de color Amarillo la Plataforma Continental, de verde, Centro Litoral, en rosa Continente y lila el Océano.

6.2 Resultados de vibrios continentales cultivables de pozas de Cuatro Ciénegas en los muestreos de los años 2013, 2015, 2016 y 2017

Se logro describir la diversidad y distribución de vibrios de los muestreos de sedimento de Pozas Rojas del año 2013 (C1POZAS_ROJASS), La Becerra del año 2016 (C3BECERRAS), Pozas Rojas del año 2016 (C3POZAS_ROJASS) y de muestras de agua de Pozas Rojas del año 2013 (C1POZAS_ROJASW), Churince del año 2015 (C2CHURINCEW), Churince del año 2016 (C3CHURINCEW), Pozas Rojas3 2016 (C3POZAS_ROJASW), Churince del año 2017 (C4CHURINCEW) y Pozas Azules 2017 (C4POZAS_AZW). Los muestreos que presentaron mayor diversidad son los correspondientes al año 2013 (Figura 12 y 13), los cuales corresponden a los muestreos de Sedimento de Pozas Rojas del año 2013 (1POZAS_ROJASS), muestra de agua de Pozas Rojas del año 2013 (1POZAS_ROJASW), este muestreo tiene representantes de los géneros *Cholerae*, *Anguillarum*, *Harveyi*, *Photobacterium* y *Fujianjensis*.

.6.2.1 Obtención de secuencias y construcción de filogenias de Cuatro Ciénegas Coahuila

El árbol de secuencias Continentales de Cuatro Ciénegas (Figura 11) se muestra que distintos clados dominan en distintos años las pozas de Cuatro Ciénegas. En el año 2013 (Azul), la mayoría de las secuencias caen dentro de los grupos *Anguillarum*, *Harveyi* y *Photobacterium*, el año 2013 es el que contiene el mayor numero de taxa y no hay un taxón dominante en este año. La mayoría de las secuencias de los años 2015 (Rojo) y 2016 (Anaranjado) se encuentran dentro del grupo *Cholerae* y específicamente pertenecen a *V. cholerae*. Por último, la mayoría de las secuencias del muestreo del año de 2017 (Verde) se pertenecen a la especie *S. proteolyticus* del grupo *Salinivibrio*

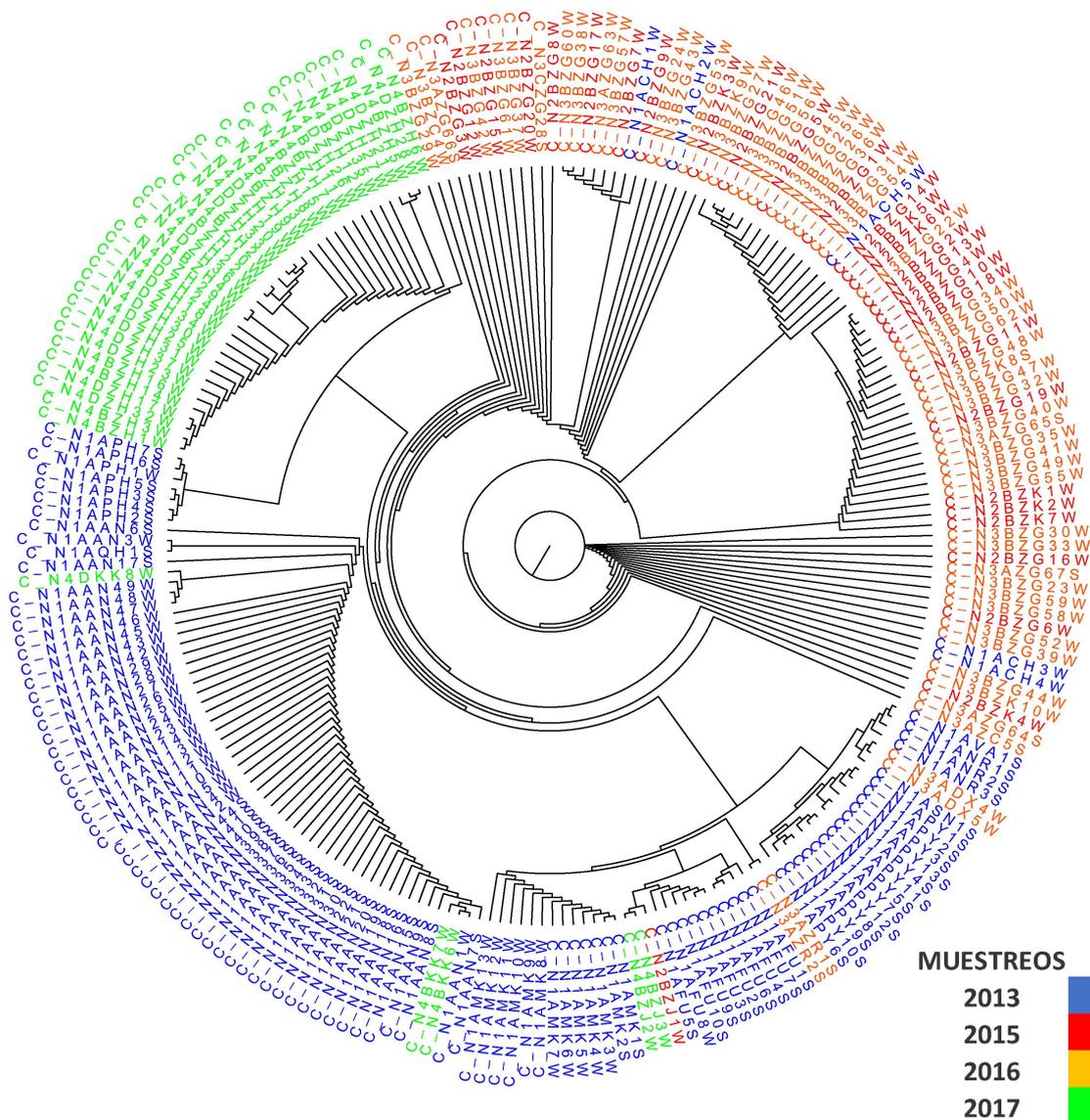


Figura 11. Árbol filogenético basado en secuencias parciales del gen ARNr 16S, obtenido por el método de neighbor joining, para los distintos muestreos de Cuatro Ciénegas Coahuila, año 2013 (Azul), 2015 (Rojo), 2016 (Anaranjado) y 2017 (Verde), este árbol no tiene grupo externo.

.6.2.2 Abundancia en muestreos 2013, 2015, 2016 y 2017

En los clados de vibrios identificados en los distintos ambientes de Cuatro Ciénegas (Figura 12) durante los años 2013, 2015, 2016 y 2017 se observa que la especie *V. cholerae* está presente en 7 de los 9 muestreos y que el clado *Salinivibrio* es dominante en el muestreos del año 2017. El muestreo del año 2013 es el que presenta mayor número de especies, el menor número lo presenta el muestreo del año 2016, donde *V. cholerae* tiene una abundancia casi absoluta, valores de abundancia similares observados en figura S3.

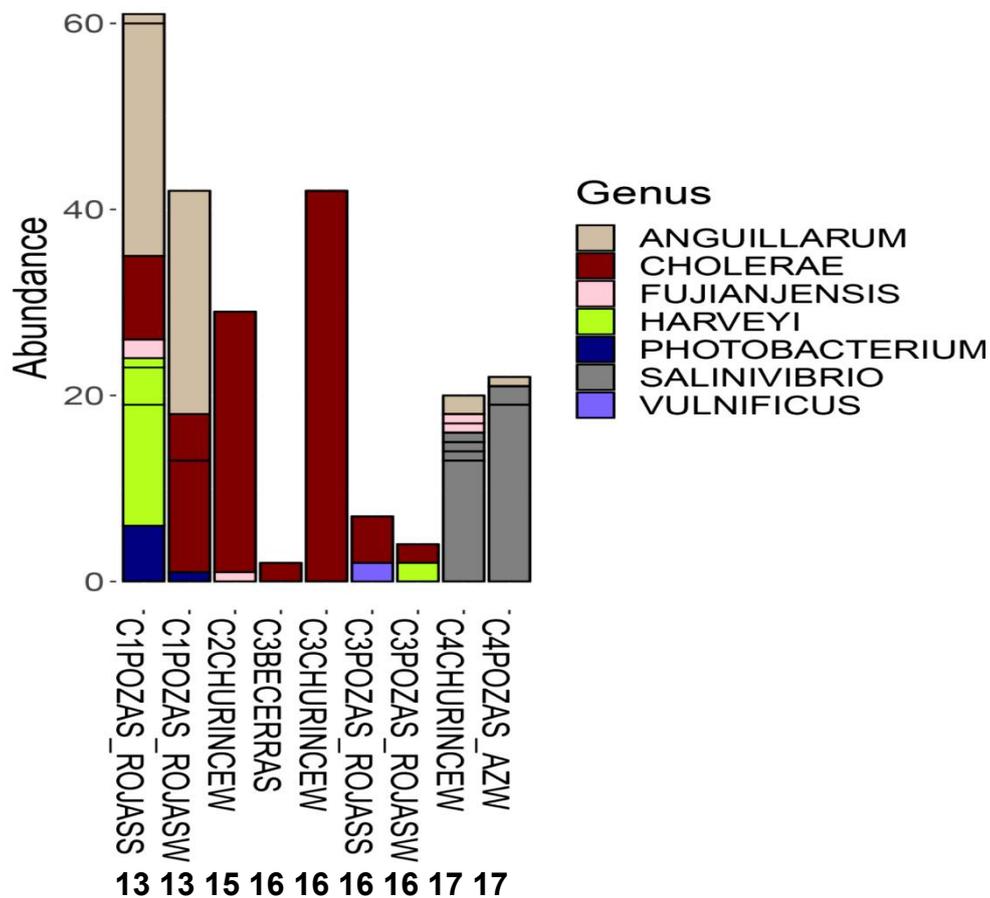


Figura 12. Abundancia absoluta de vibrios en cada uno de los ambientes dentro de este estudio: sedimento de Pozas Rojas del año 2013 (C1POZAS_ROJASS), La Becerra del año 2016 (C3BECERRAS), Pozas Rojas del año 2016 (C3POZAS_ROJASS) y de muestras de agua de Pozas Rojas del año 2013 (C1POZAS_ROJASW), Churince del año 2015 (C2CHURINCEW), Churince del año 2016 (C3CHURINCEW), Pozas Rojas3 2016 (C3POZAS_ROJASW), Churince del año 2017 (C4CHURINCEW) y Pozas Azules 2017 (C4POZAS_AZW).

.6.2.3 Medidas de diversidad alfa de 9 regiones acuáticas de Cuatro Ciénegas

La mayor riqueza de OTUs se da en los muestreos de agua y sedimento del año 2013 (Figura 13) y los muestreos del año 2016, muestra la menor diversidad, siendo dominante la especie *V. cholerae*.

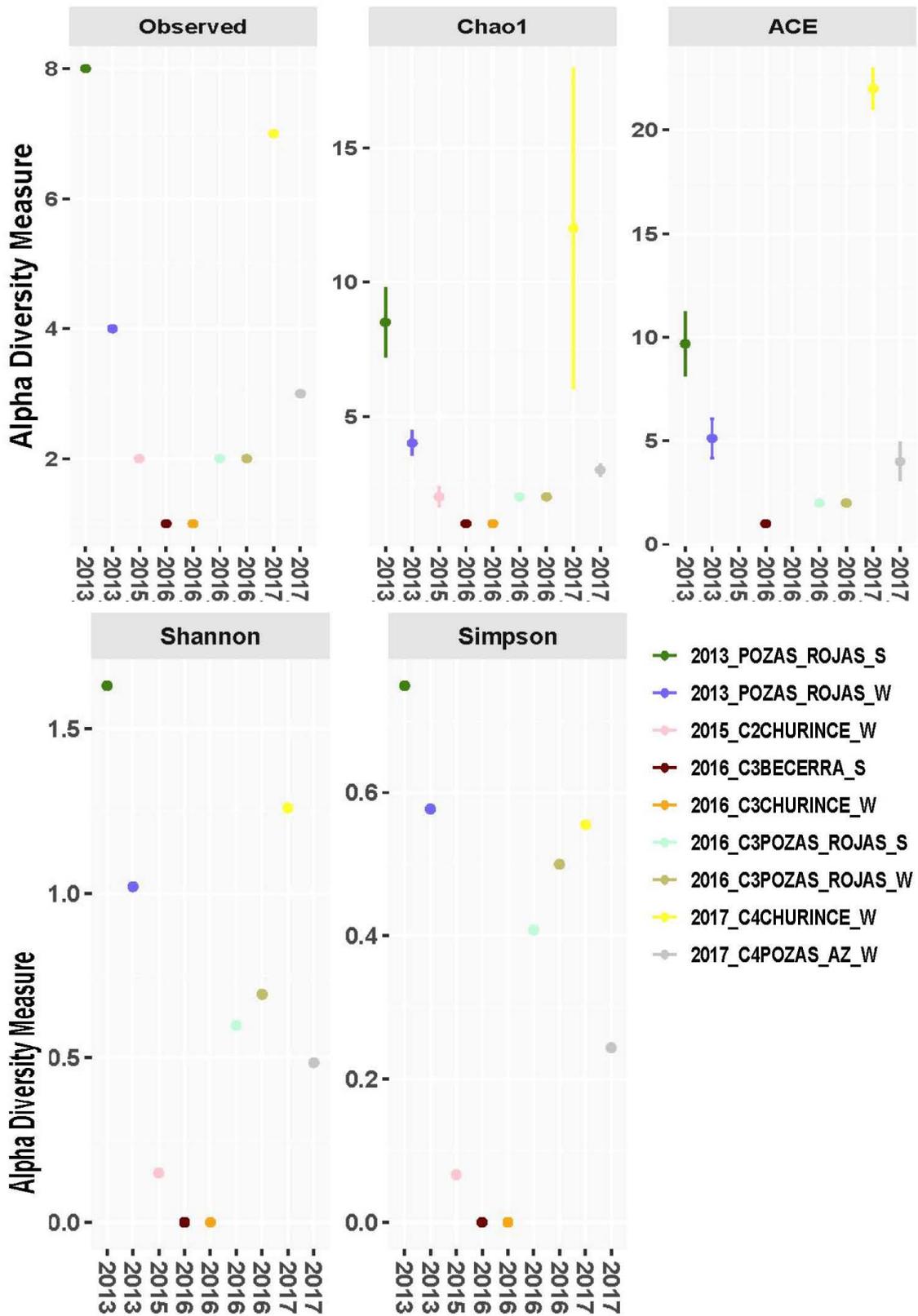


Figura 13. Medidas de diversidad alfa de 9 regiones acuáticas de Cuatro Ciénegas, Los ambientes contrastados son Sedimento de Pozas Rojas del año 2013 (1POZAS_ROJASS), muestra de agua de Pozas Rojas del año| 2013 (1POZAS_ROJASW), muestra de agua de Churince del año 2015

(2CHURINCEW), muestra de sedimento de La Becerra del año 2016 (3BECERRAS), muestra de agua de Churince del año 2016 (3CHURINCEW), muestras de sedimento de Pozas Rojas del año 2016 (3POZAS_ROJASS), muestra de agua de Pozas Rojas3 2016 (POZAS_ROJASW), muestras de agua de Churince del año 2017 (4CHURINCEW) y muestras de agua de Pozas Azules 2017 (4POZAS_AZW).

.6.2.4 Árbol de distancias genéticas de las especies de vibrios en las distintas regiones acuáticas y su abundancia absoluta

En el árbol de géneros de vibrios (Figura 14) se observa que el muestreo del 2013 abarca mas grupos del árbol, el grupo que muestra presencia en distintos años exceptuando 2017 es *Cholerae* y que el grupo de *Salinivibrio* solo se encuentra en los muestreos del año 2017.

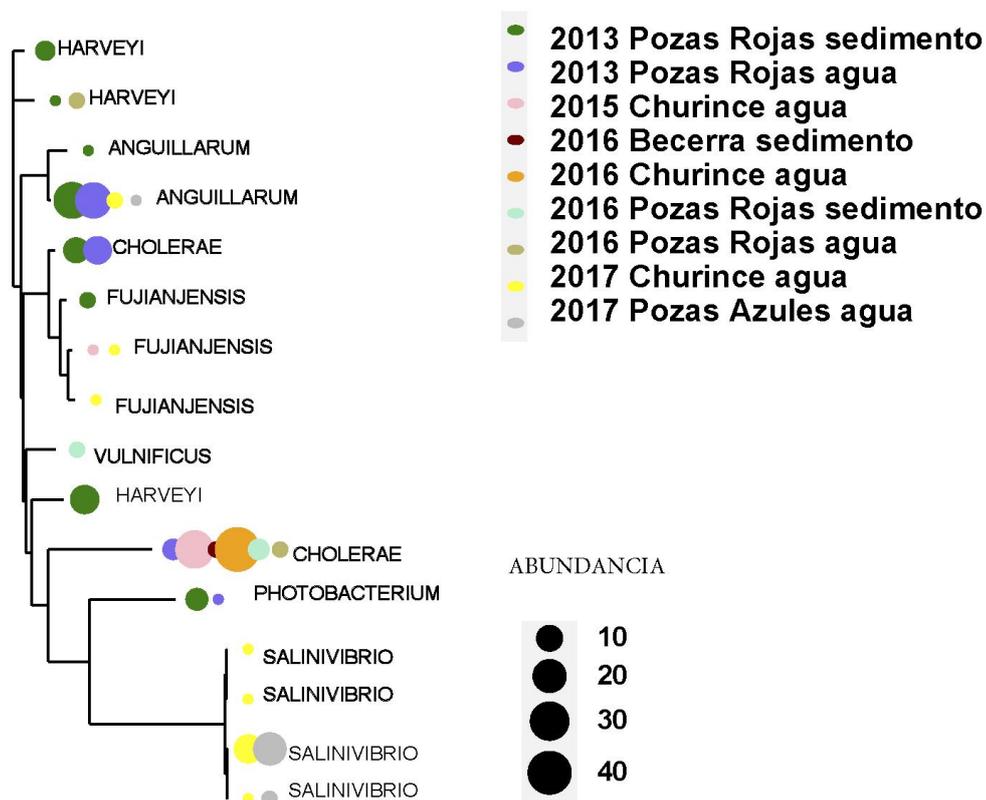


Figura 14. Árbol filogenético de géneros de vibrios en las distintas regiones acuáticas y su abundancia absoluta (la abundancia es mayor entre mas grande es el círculo negro). Sedimento de Pozas Rojas del año 2013 (1POZAS_ROJASS), muestra de agua de Pozas Rojas del año 2013 (1POZAS_ROJASW), muestra de agua de Churince del año 2015 (2CHURINCEW), muestra de sedimento de La Becerra del año 2016 (3BECERRAS), muestra de agua de Churince del año 2016 (3CHURINCEW),

muestras de sedimento de Pozas Rojas del año 2016 (3POZAS_ROJASS), muestra de agua de Pozas Rojas3 2016 (POZAS_ROJASW), muestras de agua de Churince del año 2017 (4CHURINCEW) y muestras de agua de Pozas Azules 2017 (4POZAS_AZW).

.6.2.5 NMDS de los muestreos de Cuatro Ciénegas

En el NMDS (Figura 15) podemos observar que hay mayor cercanía entre los muestreos de agua de Churince del 2015 y del 2016 y del muestreo de sedimento de Becerras del año 2016, muestreos que tienen una dominancia de la especie *V. cholerae*. Los muestreos de agua y sedimento de Pozas Rojas del año 2013 están cercanos entre sí, estos muestreos tienen una presencia importante de *P. halotolerans*. Por ultimo los muestreos del 2017 de agua de Churince y Pozas Azules presentan una dominancia de la especie *S. proteolyticus* y se encuentran muy cercanos en el NMDS.

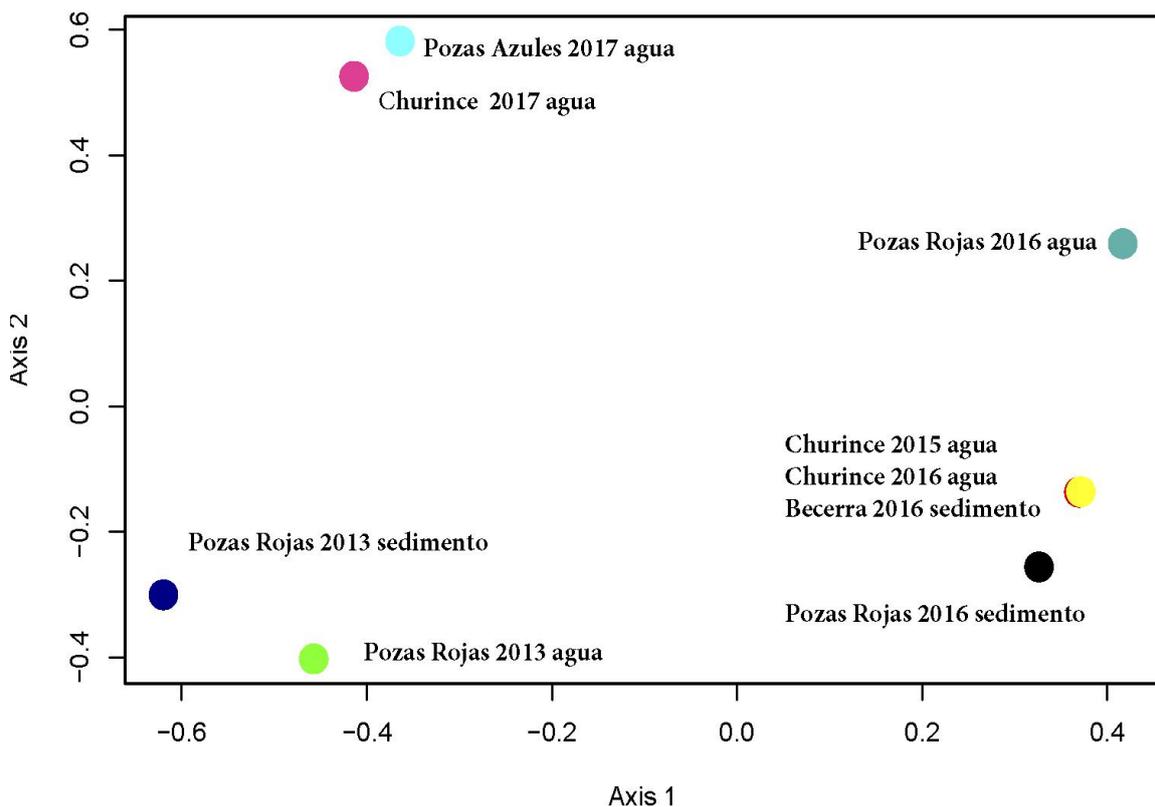


Figura 15. NMDS usando la matriz de distancias de las 490 secuencias de los 9 muestreos de CCC. Sedimento de Pozas Rojas del año 2013 (1POZAS_ROJASS), muestra de agua de Pozas Rojas del año 2013 (1POZAS_ROJASW), muestra de agua de Churince del año 2015 (2CHURINCEW), muestra de sedimento de La Becerra del año 2016 (3BECERRAS), muestra de agua de Churince del año 2016 (3CHURINCEW), muestras de sedimento de Pozas Rojas del año 2016

(3POZAS_ROJASS), muestra de agua de Pozas Rojas3 2016 (POZAS_ROJASW), muestras de agua de Churince del año 2017 (4CHURINCEW) y muestras de agua de Pozas Azules 2017 (4POZAS_AZW).

.6.2.6 Proporción de OTUs compartidos entre los muestreos de agua y sedimento de Pozas Rojas años 2013 y 2016

En el diagrama de Venn (Figura 16) el mayor número de OTUs compartidos se da entre los ambientes de agua y sedimento de Pozas Rojas del muestreo del año 2013. La especie *V. cholerae*, del género *Cholerae*, se comparte en los ambientes de agua de Pozas Rojas del 2013, y en muestras de los ambientes de sedimento y agua de Pozas Rojas del muestreo del 2016. En 2013 cuenta con 8 OTUs, el cual es el muestreo que cuenta con mayor cantidad de OTUs.

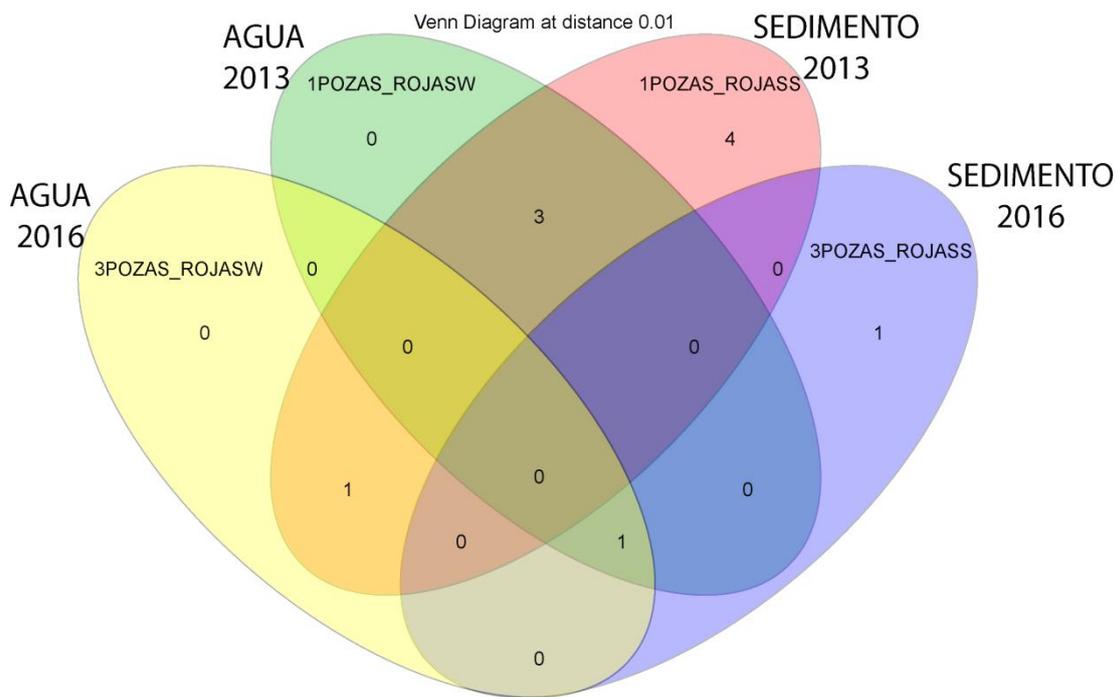


Figura 16. Diagrama de Venn de los OTUs compartidos entre ambientes de Cuatro ciénegas Coahuila. La distancia genética entre secuencias dentro de cada OTUs es igual o menor a 0.01 %, cada ovalo representa un ambiente, el muestreo de agua de Pozas Rojas del 2016 en color Amarillo, muestras de agua de Pozas Rojas del 2013 en verde, muestras de sedimento de Pozas Rojas del 2013 en rosa y muestras de sedimento de Pozas Rojas del 2016 en lila.

.6.2.7 Abundancia de *V. cholerae* en los distintos ambientes acuáticos estudiados de Cuatro Ciénegas

Todos los años hubo recuperación de especies de *V. cholerae* a excepción del año 2017. El muestreo de agua de Churince del año 2016 es el que tiene mayor número de secuencias de *V. cholerae* con 42 (Figura 17), le sigue en cuanto número de secuencias el muestreo de agua de Churince del año 2015.



Figura 17. Número de secuencias de ARNr 16S para *V. cholerae* (OTU 01) en los distintos ambientes acuáticos estudiados de Cuatro Ciénegas.

.6.2.8 Árbol de *V. cholerae* muestreos 2013, 2015 y 2016

El árbol de ARNr 16S de especies de coleras (Figura 18), fue realizado con secuencias de *V. cholerae* de los muestreos de distintas pozas de los años 2013, 2015 y 2016. En el árbol de coleras, se puede observar, que la mayoría de las secuencias pertenecen a los muestreos del año 2015 y 2016 y que una gran porción de ellas se derivan de una rama principal formando un clado (en rojo). También se observa que hay 16 secuencias que se encuentran separadas del clado rojo y que no tienen una referencia cercana de alguna *V. cholerae* de la base de datos del NCBI.

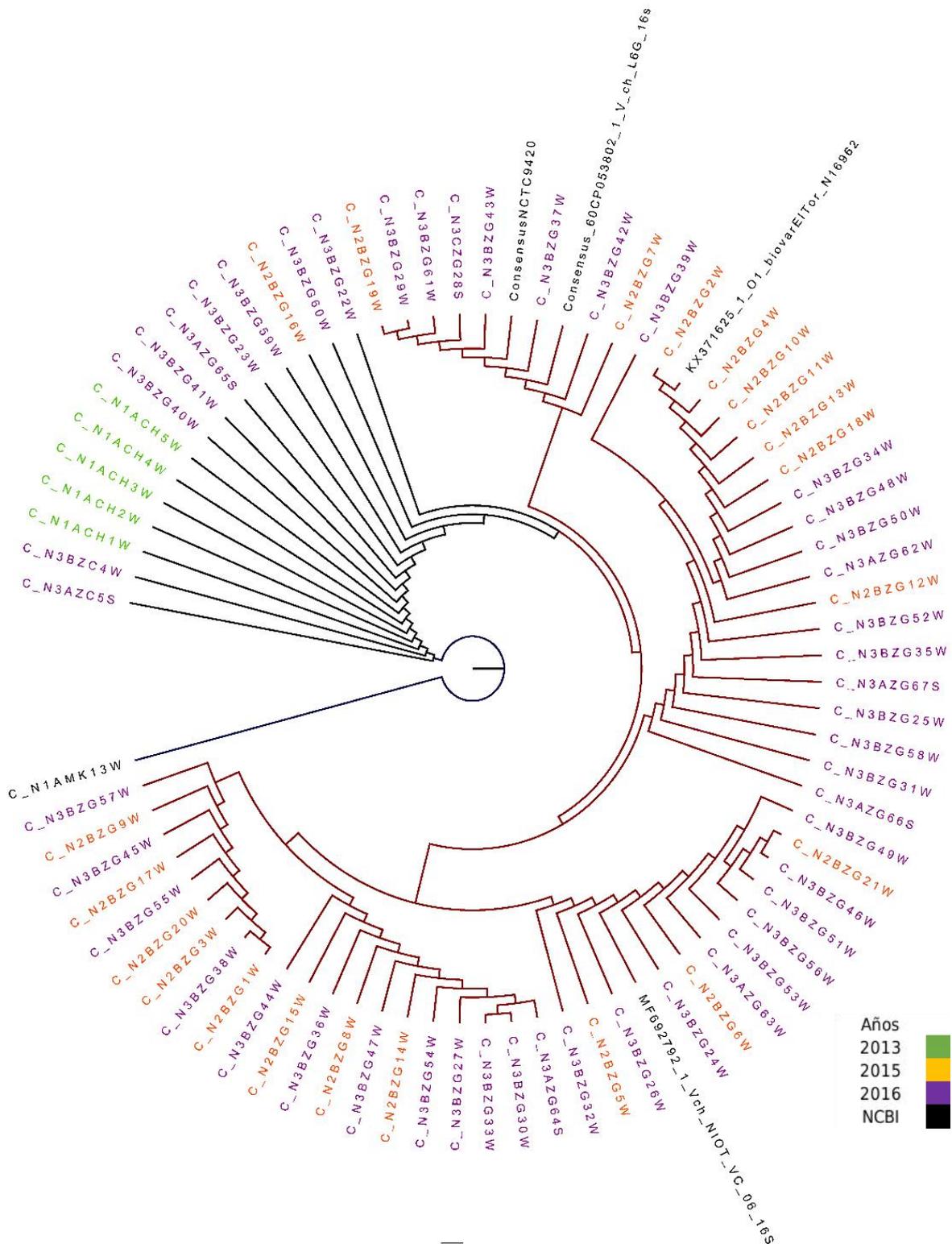


Figura 18. Árbol Neighbor Joining construido a partir de las secuencias de *V. cholerae* de los muestreos de 2013, 2015 y 2016 y de secuencias del NCBI, como raíz se usó la secuencia de *V. metchnikovii*. En verde las secuencias de los muestreos del 2013, en anaranjado las pertenecientes al 2015, en morado las pertenecientes al 2016, en negro secuencias representativas de la especie tomadas del NCBI y la especie *V. metchnikovii* como grupo externo para darle polaridad al árbol.

.7.DISCUSIÓN

.7.1 Discusión de vibrios cultivables de latitudes altas y bajas

Las condiciones de los medios de cultivos usados en microorganismos en el laboratorio son muy diferentes a las de los ambientes naturales de donde fueron tomados, muchas cepas no pueden ser cultivados (Zengler *et al.*, 2002; Abed, 2009) y los que llegan a crecer no son necesariamente los más representativos de la comunidad original (Malik *et al.*, 2008), pero los microorganismos que se obtengan y las inferencias sobre sus patrones de distribución o estilos de vida son pueden ser un acercamiento a entender la complejidad de las comunidad naturales.

.7.1.1 Abundancia y distribución de vibrios en latitudes altas y bajas

La mayoría de las investigaciones sobre la familia *Vibrionaceae*, describen su abundancia en un mismo lugar, tomando en cuenta la temperatura promedio de las distintas estaciones del año, es decir los periodos cálidos o fríos, hay otras que relacionan la abundancia de este grupo o de especies particulares de vibrios con respecto a la temperatura promedio a distintas profundidades, otros se han enfocado a la abundancia relativa de vibrios con respecto a la distancia de la costa en lagos pero los esfuerzos sobre esta tesis se han encaminado en tratar de describir la diversidad, abundancia y distribución geográfica de forma más global, abarcando distintos muestreos marinos y continentales, tanto de latitudes altas (+35° a +90° y -35° a -90°) como en bajas (+35 a 0° y de -35 a 0°).

En este trabajo se ha encontrado que la diversidad filogenética y abundancia relativa de los vibrios estudiados en esta tesis es diferente en las aguas marinas de latitudes altas y bajas. La diversidad de especies diferencial entre estas dos zonas puede estar influenciada por las temperaturas promedio que se presentan en cada una de ellas, para latitudes mas cercanas al polo norte +35° a +90°, la temperatura promedio fue de 6.6°C y para latitudes mas cercanas al polo sur del planeta -35° a -90°, fue de 5.8°C en cambio en latitudes bajas mas cercanas a la linea del ecuador de 0° a +35° fue de 23.4°C y de 0° a -35° fue de 23.4°C. Los distintos análisis de este estudio mostraron que las regiones más parecidas genéticamente son las pertenecientes a latitudes altas, es decir las que van de +35° a +90° al norte del ecuador y las que van de -35° a -90° al sur de ecuador, esta similitud genética se da a pesar de la inmensa distancia geográfica que hay entre ellas, cabe resaltar que estas dos

regiones más polares presentaron temperaturas mas bajas en comparación con las temperaturas de regiones de latitudes bajas, mas cercanas a los trópicos. En los ambientes de latitudes bajas se concentran la mayor cantidad de taxones y entre ellas comparten muchos taxones, lo cual es de esperarse ya que tienen zonas de continuidad geográfica, además de presentar temperaturas promedio similares (23.4°C y 23.4°C), las cuales se asocian a crecimientos favorables de varias especies de vibrios.

El grupo de bacterias dominantes en aguas de latitudes altas mas polares pertenecen al grupo *Splendidus*, el cual solo fue encontrado en los biomas marinos, no tuvo representantes en aguas continentales, se sabe que las condiciones óptimas encontradas en laboratorio para la sobrevivencia para uno de sus integrantes, *V. splendidus* se da en salinidades de alrededor del 3.3% y concentración de nutrientes de 5mg l⁻¹ o 1 g l⁻¹, porcentaje y concentración de nutrientes parecidas a las del agua de mar, además de que se ha visto que las cepas de *V. splendidus* entran en estado viable pero no cultivable en agua dulce y salobre (0.0 a 1.6% de salinidad) y también cuando se encuentran con alto contenido de nutrientes (17 g l⁻²¹) en su medio (Armada, S. P, et al., 2003), es importante resaltar que las especies de este grupo pueden crecer a temperaturas bajas, incluso a los 1.6°C (Radjasa et al., 200) y tener crecimientos óptimos a temperaturas templadas alrededor de los 20°C (Maeda et al., 2003), incluso presentan crecimiento alrededor de los 30°C (Urakawa et al., 1999), lo cual es un amplio rango de temperaturas de crecimiento para este grupo. La especie *V. Chagasii* del clado *Splendidus* fue la única con presencia en todos los ambientes estudiados en este trabajo, dicha especie tiene un crecimiento optimo a 25° C (Liang et al., 2019).

.7.1.2 Abundancia y distribución de vibrios continentales, de Litoral, Plataforma y Océano

La diversidad y abundancia de vibrios de aguas continentales y marinas fue diferente, sin embargo, hay que tomar en cuenta que casi todas las secuencias continentales usadas en este trabajo son de el mismo lugar, es decir, pozas de Cuatro Ciénegas ubicadas en Coahuila México. Se ha descrito en la literatura (Hsieh et al., 2008, Hsieh et al., 2008; Turner et al., 2009; Froelich et al., 2013; Nigro et al., 2011; Shapiro et al., 1998; Tamplin, 2001) que la mayoría de vibrios aumenta su abundancia relativa al aumentar la temperatura del medio en el que se encuentren. En este tesis se describe que la mayor diversidad de especies se encuentra concentrada en general en zonas de latitudes bajas con temperatura promedio de 23.4°C y que la menor diversidad de taxones se da en latitudes altas con un promedio de 6.2°C. El ambiente con mayor concentración de especies fue el litoral de latitudes bajas (27.9°C), sin embargo el clado *Splendidus* no se encontró en este ambiente, lo cual puede deberse a que se ha reportado que este grupo no tiene buenos

crecimientos en concentraciones de nutrientes altas, otra posibilidad es que se encuentre en forma viable pero no cultivable o en sedimentos marinos. Por otra parte las especies más comunes en latitudes bajas corresponden al grupo *Harveyi*, las temperaturas más cálidas de estas latitudes podrían ser más propicias para este clado, ya que tienen un crecimiento óptimo a temperaturas que van de los 30° C a 35° C (Owen y Busico-Salcedo, 2006). Dentro del grupo *Harveyi* se encontró que la especie *V. rotiferanus* está más restringida a latitudes bajas, lo que estaría apoyando un posible patrón de distribución geográfica y abundancia relativa diferencial de las especies de vibrio por la diferencia de temperatura entre latitudes altas y bajas, más aún, se sabe que, *V. rotiferanus* tiene un rango de temperatura óptimo que va de los 30° a los 35° y sin crecimiento a los 4°C (Loredana Stabili *et al.*, 2012), temperatura cercana a los 6.2°C de los muestreos de latitudes altas.

.7.1.3 Diversidad y abundancia de vibrios en Litoral, Plataforma Continental y Océano

El Litoral presentó la mayor diversidad de especies de vibrio, en este estudio tuvo una temperatura promedio de 27.9°C, este bioma se encuentra expuesto a condiciones ambientales menos homogéneas que la Plataforma (12.5°C) y el Océano (19°C), en especial la temperatura promedio más alta del litoral con respecto a los otros dos ambientes estaría ocasionando que haya un recambio de especies más drástica por estaciones del año e incluso a lo largo del día. Además los litorales son las zonas que se encuentran a menor profundidad y más cerca de la zona verdaderamente continentales, en estudios continentales de lagos, el aumento de abundancia relativa en vibrios, se ha relacionado con su cercanía a la costa, ya que en esta zona hay mayor cantidad de nutrientes debido a escorrentías de aguas pluviales y a flujos bentónicos (Nigro *et al.*, 2011). Aunque en el artículo de Nigro *et al.*, 2011, solo se habla del aumento total de vibrios cerca de la costa en lagos, si este patrón lo trasladamos a una escala mayor, se podría pensar que en las costas marinas se tiene mayor variación ambiental y mayor cantidad de nutrientes de distintas y variadas fuentes, lo que se traduciría no solo en mayor abundancia de vibrios si no a mayor diversidad de especies. La estructura genética de las comunidades de vibrios en los biomas Litoral, Océano y plataforma podrían estar siendo afectados por su distancia a la costa, es decir su distancia a las zonas netamente continentales, las variables implicadas para este fenómeno podrían ser la proporción de salinidad y la variación de temperatura u otras variables ambientales. La plataforma continental sería más salada que la zona litoral ya que esta última estaría influenciada por el contacto con aguas continentales las cuales serían más dulces en general y presentaría mayor variación a lo largo del día, o de las estaciones del año.

Por otro lado, la menor diversidad de especies de vibrios la tuvo la plataforma continental, este bioma presentó bajas temperaturas con respecto al litoral lo cual podría estar ocasionando un clima menos propicio para el crecimiento de varias especies de vibrios, además se ha visto que la diversidad puede ser baja en climas fríos (Fuhrman, 2009), también podría haber muchas más especies de vibrios que estarían viviendo en zonas más cercanas al fondo marino o en el sedimento del fondo marino donde encuentran los nutrientes necesarios para su sobrevivencia, por tanto se necesitarían estudios de fondo marino de plataforma para contrastar resultados y más puntos de muestreo a distintas latitudes de este ambiente.

.7.1.4 Biogeografía de especies de vibrios y su posible relación con la temperatura y salinidad

Las once regiones biogeográficas de latitudes altas y bajas analizadas en este estudio tienen muchos taxones diferentes entre sí, las variables ambientales como la temperatura o salinidad podrían estar ocasionando esta diferencia en la riqueza de especies, en este estudio se presentaron rangos de temperatura que van de los -5°C a los 30°C . Hay estudios en los que se ha visto que al aumentar la salinidad y temperatura hay un aumento en la abundancia relativa de vibrios, los rangos de temperatura usados en dichos estudios, van de los 2.5°C a los 32.5°C con salinidades que van de los 0 a las 27 partes por mil (ppt) (Hsieh *et al.*, 2008; Turner *et al.*, 2009; Froelich *et al.*, 2013), pero quizá más importante el ya mencionado metaanálisis en el cual se analizaron varios trabajos de vibrios en los que se estudia la variación en la abundancia de vibrios dada por distintas variables ambientales (Takemura *et al.*, 2014), encontrando que la temperatura y la salinidad son las dos variables que determinan generalmente la abundancia local de vibrios, que otros parámetros analizados son inconsistentes y que los patrones generales dependen de la especie analizadas. Estos estudios nos dejan ver que estas dos variables son muy importantes para aumentar la presencia en cuanto a número de individuos de cada población de especies de vibrios a nivel local. En esta tesis se ha observado que la distribución geográfica y la abundancia de cada especie de la familia *Vibrionaceae* estaría influida por la temperatura, es decir, cada especie estaría creciendo y distribuyéndose diferencialmente de acuerdo a un gradiente latitudinal a lo largo del globo, el cual a su vez estaría correlacionado con un gradiente de temperatura. Esto podría explicar por que los vibrios de regiones de latitudes bajas son más parecidos entre sí, lo mismo ocurriría con los vibrios de regiones de latitudes altas del sur y del norte, que a pesar de la gran distancia que los separa también contienen las mismas especies o especies cercanas.

.7.2 Discusión de vibrios cultivables en CCC

Los nueve muestreos de Cuatro Ciénegas Coahuila presentan diferencias en cuanto a los taxones que comparten y las diferencias más marcadas se dan entre muestreos de distintos años, la variación de la temperatura y/o salinidad en los distintos años podría estar ocasionando la diferencia en cuanto a presencia de especies, ya que muestreos del mismo año con rangos de temperatura y salinidad similares son más parecidos entre sí en cuanto a los taxones que contienen.

.7.2.1 Reducción de diversidad en vibrios cultivables en CCC

La diversidad de vibrios después del muestreo del 2013 fue la mas alta, a partir del 2015 solo se lograron recuperar pocos taxones, mas bien solo había pocas especies dominantes, en cada muestreo se observa un cambio en las variables ambientales de salinidad y temperatura, lo que estaría provocando junto con otras variables esta reducción de diversidad de especies. El mayor número de OTUs compartidos entre muestreos se da entre los ambientes de Pozas Rojas del año 2013, los taxones compartidos entre ellas son *Anguillarum*, *Photobacterium* y *Fujianjensis*. En el año 2013 se observa dominancia de *V. metshinkovi*, *V. anguillarum* y *V. proteolyticus* en cambio en el 2017 se observa una dominancia del clado *Salinivibrio*, es decir hay un cambio drástico en las especies encontradas y en su abundancia, las especies de vibrios son muy susceptibles a cambios en las variables ambientales, tanto la temperatura como la salinidad junto con otros factores ambientales podría estar ocasionando el recambio de taxones en los distintos años.

.7.2.2 Presencia y abundancia de los distintos grupos de vibrios en los muestreos de los años 2013, 2015, 2016 y 2017 de las pozas de Cuatro Ciénegas Coahuila

La diversidad y distribución de los vibrios de este estudio encontrados en cuerpos de agua a lo largo del planeta, parecen estar influenciados por la temperatura, ya que tanto la distribución como la diversidad de especies de vibrios en latitudes altas (más frías y menos salinas) y latitudes bajas (menos frías y más saladas) fue diferente en los muestreos de Océano, Plataforma y Litoral de este estudio, a una escala geográfica menor se podría estar observando este mismo patrón, ya que las salinidades y temperaturas de los distintos muestreos variaron entre sí, tal es el caso del muestreo del 2015 y 2016 con temperaturas altas, en los que la especie dominante fue *V. cholerae* y en cambio en el 2017, año en el que se observa una disminución de la temperatura promedio y una disminución de la salinidad el grupo *Salinivibrio* fue dominante.

El grupo *Cholerae* se presentó en siete de los nueve muestreos de los años 2013, 2015, 2016 y 2017 de las pozas de Cuatro Ciénegas presentados en este estudio, los integrantes de *Cholerae* fueron *V. metchnikovii* y *V. cholerae*. La abundancia de *V. Cholera* fue mayor en años más cálidos, 2015 con 29.2°C y 2016 con 25°C (Rodríguez, 2017), lo cual coincide con los reportes en los que *V. cholerae* presenta mayor abundancia a temperaturas mas altas (Singleton *et al.*, 1982; Esteves *et al.*, 2005; Jiang, SC y Fu, W 2001). Por otra parte *V. cholerae* no fue recuperada en el muestreo del año 2017 el cual presentó 19°C y una salinidad de 2% (P/V), la cual fue menor a la del año anterior, con 6% (P/V) de salinidad, este cambio en variables podría estar ocasionado su nula recuperación.

En el muestreo del 2017 el taxón más común fue el grupo de *Salinivibrio*, específicamente la especie *S. proteolyticus*, la cual es una especie que puede crecer en temperaturas bajas, salinidades relativamente altas y ambientes ligeramente alcalinos (Amoozegar *et al.*, 2008), lo que precisamente se registró en las pozas de ese año con 19°C, salinidad de 2% (P/V) y pH 7.6 (tabla S1). Las aguas con temperaturas bajas podrían estar ocasionando que algunas especies de vibrios no sean recuperadas, aun así las células de dichas especies no recuperadas en los muestreos, podrían estar permaneciendo como células viables, pero no cultivables o como parte del sedimento.

En los muestreos del océano, el grupo *Photobacterium* solo fue encontrado en el Pacífico Oriental Mexicano, en la plataforma Continental a 49 metros de profundidad en las muestras marinas, varios integrantes de este grupo son conocidos por ser hallados a profundidades altas (Johnson RM, *et al.*, 1969; Nogi Y, *et al.*, 1998 y Seo Hj, *et al.*, 2005). Aunque este grupo es básicamente encontrado en ambientes marinos, es interesante que la especie de *Photobacterium Halotolerans* fuera hallada en el muestreo de CCC del año 2013, muestreo con temperaturas promedio de 23°C, esta especie tiene registros de crecimiento a temperaturas bajas, salinidades moderadas o altas y pH alrededor de 7 (Rivas, R., *et al.*, 2006).

Por último es importante mencionar que hay 16 secuencias de *V. cholerae* que se encuentran distantes de las demás *V. cholerae* en el árbol de la figura 18 construido a partir de las secuencias de muestreos de 2013, 2015 y 2016 y que también se encuentran separadas dentro del árbol de secuencias de referencia del NCBI, estas secuencias podrían ser cepas exclusivas de las pozas de Cuatro Ciénegas Coahuila.

.8.Conclusiones

Los resultados presentados en esta tesis constituyen un aporte al estudio de la biogeografía bacteriana y en particular al estudio de la biogeografía de vibrios cultivables tres biomas los cuales son Mar, Plataformas Continental y de aguas Continentales a lo largo de distintas latitudes. Los resultados derivados de los análisis de este trabajo muestran diferencia de diversidad genética entre las 11 regiones biogeográficas acuáticas de latitudes altas y baja de los biomas, Mar, Continente y Plataforma, es decir, no todas las especies se encuentran en la misma proporción y hay presencia y ausencia diferencial incluso en el bioma marino.

A pesar de que en este estudio se usaron solo bacterias cultivables, se encontraron varios integrantes de cada uno de los clados de vibrios, lo que estaría indicando un acercamiento valido para el estudio de esta familia en mar y en las pozas de Cuatro Ciénegas Coahuila. Al caracterizar la estructura y diversidad de aislados de vibrios de Mar, Plataforma Continental y Continente, se logró describir la diversidad y distribución de vibrios de latitudes altas y latitudes bajas. En esta tesis también se logró describir la diversidad y abundancia en aguas continentales, litoral, plataforma continental y océano de las distintas especies de vibrio.

La diversidad y distribución de los vibrios encontrados en cuerpos de agua a lo largo del planeta parecen estar influenciados por la temperatura y salinidad, tanto la distribución como la diversidad de especies de vibrios en latitudes altas de aguas más frías y latitudes bajas de aguas menos frías fue diferente, en este estudio solo se usaron las coordenadas geográficas, datos bibliográficos o de bases de datos de variables ambientales como la temperatura así como los datos teóricos de crecimiento en cultivos a determinadas temperaturas y salinidades.

La estructura genética entre Continente, Litoral, Plataforma Continental y Océano es diferente, estos ambientes contienen en su mayoría taxones diferentes y las especies compartidas entre los Biomas son divergentes a nivel nucleotídico o son muy pocas para acercar la similitud genética entre ambientes, el ambiente mas rico en especies fue el Litoral, es decir el mas cercano a la costa y el de temperaturas mas altas.

En cuanto a los muestreos de CCC la diversidad de especies de vibrios fue más alta en el año 2013, dicha diferencia puede atribuirse a rangos de temperatura o salinidad promedio más adecuados para el desarrollo de la mayoría de las especies de la familia *Vibrionaceae* y a una menor perturbación de las pozas de cuatro Ciénegas, los cuales están relacionados con el nivel de agua de dichas pozas, sin embargo esto se sigue estudiando en otros proyectos y otros taxones.

Los muestreos de los años 2015 y 2016 de las pozas de Cuatro Ciénegas presentan una gran abundancia de *V. cholerae*, los muestreos de este año fueron más similares genéticamente entre ellos que con muestreos de

otros años, esto pudo ser ocasionado por un comportamiento de tipo pandémico de la especie *V. cholera*, debido a un incremento en la perturbación de las pozas y a un aumento de la temperatura. La especie *V. cholera* puede tener cepas no descritas anteriormente, lo cual sería interesante para estudios posteriores a nivel filogeográficos de esta especie.

La dominancia del género *Salinivibrio* en el muestreo del año 2017 en las pozas de CCC puede estar correlacionado positivamente con la salinidad, ya que esta especie tiene buen crecimiento a temperaturas relativamente bajas y a salinidades moderadas.

El estudio de la estructura y diversidad de las especies de vibrios de los distintos muestreos de CCC proveerá información esencial que permitirá comprender mejor la biogeografía y recambio de especies en cuerpos de agua continentales.

.9.Perspectivas

Realizar futuros trabajos que logren identificar a fondo las variables ambientales, los factores fisiológicos y genéticos que ayuden a entender las diferencias ecológicas entre los tipos de cepas de cada bioma tanto en sistemas marinos como continentales.

En este estudio se usaron básicamente coordenadas geográficas, bases de datos y varios datos bibliográficos de variables ambientales cuando se encontraban disponibles, en estudios posteriores se debe obtener mediciones directas de todos los sitios colectados en cuanto a salinidad, temperatura, turbidez, cantidad de clorofila etc., lo que ayudaría a determinar que variable o variables ambientales estarían determinando la diversidad y distribución global oceánica de las especies de la familia *Vibrionaceae*.

En el estudio de Lin *et al.*, 2018 encontraron una recurrente expansión del número de ortólogos a lo largo de la historia evolutiva de vibrios y que muchas de estas ganancias putativas pertenecían a las funciones de transcripción, transporte de carbohidratos y metabolismo, lo que les permitió a este grupo de organismos responder a los cambios ambientales y usar diferentes tipos de sustrato para sobrevivir en diversas condiciones a lo largo del tiempo. También describen una pérdida importante de genes que intervienen en los mecanismos de transducción de señales. Ellos postulan que el constante cambio de los componentes de esta función puede indicar que los vibrios toman y desechan genes según sus necesidades, en respuesta a sus entornos. Análisis posteriores enfocados en los genomas de los aislados de vibrios de este estudio, podría aportar luz sobre este tema y mas específicamente su relación específica con la temperatura y salinidad a lo largo de su historia y en el presente.

. 10. Bibliografía

Abed, R. M. (2008). Nucleic acid-based techniques for studying diversity and activity of bacterial communities in oil-contaminated sediments. In *Contaminated Sediments* (pp. 97-160). Springer, Berlin, Heidelberg.

Alajo, S. O., Nakavuma, J., y Erume, J. (2006). *Cholera* in endemic districts in Uganda during El Niño rains: 2002–2003. *African health sciences*, 6(2), 93-97.

Alam, M., Sultana, M., Nair, G. B., Sack, R. B., Sack, D. A., Siddique, A. K. y Colwell, R. R. (2006). Toxigenic *Vibrio cholerae* in the aquatic environment of Mathbaria, Bangladesh. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(4), 2849-2855.

Amaral-Zettler, L. A., Rocca, J. D., Lamontagne, M. G., Dennett, M. R., y Gast, R. J. (2008). Changes in microbial community structure in the wake of Hurricanes Katrina and Rita. *Environmental science y technology*, 42(24), 9072-9078.

Ameryk A, Hahnke RL, Gromisz S, Kownacka J, Zalewski M, Szymanek L, Calkiewicz J, Dunalska J, Harder J. (2014). Bacterial community structure influenced by *Coscinodiscus sp.* in the Vistula river plume. *Oceanologia*, 56, 825–856.

Amoozegar, M. A., Schumann, P., Hajighasemi, M., Fatemi, A. Z., y Karbalaie-Heidari, H. R. (2008). *Salinivibrio proteolyticus sp. nov.*, a moderately halophilic and proteolytic species from a hypersaline lake in Iran. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(5), 1159-1163.

Armada, S. P., Farto, R., Pérez, M. J., y Nieto, T. P. (2003). Effect of temperature, salinity and nutrient content on the survival responses of *Vibrio splendidus* biotype I. *Microbiology*, 149(2), 369-375.

Aylward, F. O., Eppley, J. M., Smith, J. M., Chavez, F. P., Scholin, C. A., y DeLong, E. F. (2015). Microbial community transcriptional networks are conserved in three domains at ocean basin scales. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 112(17), 5443-5448.

Aznar, R., Ludwig, W., Amann, R. I., y Schleifer, K. H. (1994). Sequence determination of rRNA genes of pathogenic *Vibrio* species and whole-cell identification of *Vibrio vulnificus* with rRNA-targeted oligonucleotide probes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 44(2), 330-337.

Baumann, P., Baumann, L., Bang, S. S., y Woolkalis, M. J. (1980). Reevaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckeia*, and *Photobacterium*: Abolition of the genus *Beneckeia*. *Current Microbiology*, 4(3), 127-132.

Bej, A. K., Patterson, D. P., Brasher, C. W., Vickery, M. C., Jones, D. D., y Kaysner, C. A. (1999). Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of *tl*, *tdh* and *trh*. *Journal of microbiological methods*, 36(3), 215-225.

Belkin, S., y Colwell, R. R. (Eds.). (2006). *Oceans and health: pathogens in the marine environment*. New York: Springer.

Blackwell, K. D., y Oliver, J. D. (2008). The ecology of *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae*, and *Vibrio parahaemolyticus* in North Carolina estuaries. *The Journal of Microbiology*, 46(2), 146-153.

Bloom, S. A. (1981). Similarity indices in community studies: potential pitfalls. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 5(2), 125-128.

Böer, S. I., Heinemeyer, E.-A., Luden, K., Erler, R., Gerdts, G., Janssen, F., y Brennholt, N. (2013). Temporal and spatial distribution patterns of potentially pathogenic *Vibrio spp.* at recreational beaches of the German North Sea. *Microb. Ecol.* 65, 1052–1067.

Boeuf D, Cottrell MT, Kirchman DL, Lebaron P, Jeanthon C. (2013). Summer community structure of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in the western Arctic Ocean. *FEMS Microbiol. Ecol.* 85:417–432.

Bodilis, J., Nsigue-Meilo, S., Besaury, L., y Quillet, L. (2012). Variable copy number, intra-genomic heterogeneities and lateral transfers of the 16S rRNA gene in *Pseudomonas*. *PLoS ONE*, 7(4), e35647.

Boucher, Y., Cordero, O. X., Takemura, A., Hunt, D. E., Schliep, K., Bapteste, E., y Polz, M. F. (2011). Local mobile gene pools rapidly cross species boundaries to create endemicity within global *Vibrio cholerae* populations. *MBio*, 2(2), e00335-10.

Bray, J. R., y Curtis, J. T. (1957). An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs*, 27(4), 325-349.

Caburlotto, G., Haley, B. J., Lleò, M. M., Huq, A., y Colwell, R. R. (2010). Serodiversity and ecological distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in the Venetian Lagoon, Northeast Italy. *Environmental Microbiology Reports*, 2, 151–157.

Bruno Gomez-Gil, Cristinane C. Thompson, Yuta Matsumura, Toko Sawabe, Tetsuya Iida, Richard Christen, Fabiano Thompson y Tomoo Sawabe. (2014). The Family *Vibrionaceae*. In: Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg.

California. Genome Announcements 3: e00341–00315.

Chakravorty, S., Helb, D., Burday, M., Connell, N., y Alland, D. (2007). A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 69(2), 330-339.

Chao, A. (1984). Nonparametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of statistics*, 265-270.

Chao, A., y Lee, S. M. (1992). Estimating the number of classes via sample coverage. *Journal of the American statistical Association*, 87(417), 210-217.

Chazdon, R. L., Colwell, R. K., Denslow, J. S., y Guariguata, M. R. (1998). Statistical methods for estimating species richness of woody regeneration in primary and secondary rain forests of northeastern Costa Rica (No. Man and the Biosphere Series no. Vol. 20).

Cohen, A. L. V., Oliver, J. D., DePaola, A., Feil, E. J., y Boyd, E. F. (2007). Emergence of a virulent clade of *Vibrio vulnificus* and correlation with the presence of a 33-kilobase genomic island. *Applied and environmental microbiology*, 73(17), 5553-5565.

Colwell, R. R. (1996). Global climate and infectious disease: the *cholera* paradigm. *Science*, 274(5295), 2025-2031.

Colwell, R. R., y Spira, W. M. (1992). The ecology of *Vibrio cholerae*. In *Cholera* (pp. 107-127). Springer, Boston, MA.

Colwell, R.K. (2006). EstimateS 8.0 User's guide, Department of Ecology y Evolutionary Biology, University of Connecticut, Storrs, Connecticut.

Connon, S.A., y Giovannoni, S.J. (2002). High-throughput methods for culturing microorganisms in very-low-nutrient media yield diverse new marine isolates. *Appl Environ Microbiol*, 68, 3878-3885.

Davis, G. T., y Etnoyer, P. (2017). Ncview: a netCDF visual browser (Versión 2.1.8) [Software]. Recuperado de <https://doi.org/10.5281/zenodo.494220>

Davis, J. W., y Sizemore, R. K. (1982). Incidence of *Vibrio* species associated with blue crabs (*Callinectes sapidus*) collected from Galveston Bay, Texas. *Applied and environmental microbiology*, 43(5), 1092-1097.

Defoirdt, T., Ruwandeepika, H. D., Karunasagar, I., Boon, N., y Bossier, P. (2010). Quorum sensing negatively regulates chitinase in *Vibrio Harveyi*. *Environmental microbiology reports*, 2(1), 44-49.

DePaola, A., Nordstrom, J. L., Bowers, J. C., Wells, J. G., y Cook, D. W. (2003). Seasonal abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Alabama oysters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 1521-1526.

Deter, J., Lozach, S., Véron, A., Chollet, J., Derrien, A., y Hervio-Heath, D. (2010). Ecology of pathogenic and non-pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* on the French Atlantic coast. Effects of temperature, salinity, turbidity and chlorophyll a. *Environ. Microbiol.*, 12, 929–937.

Dorsch, M., Lane, D., y Stackebrandt, E. (1992). Towards a phylogeny of the genus *Vibrio* based on 16S rRNA sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 42(1), 58-63.

Drake, S. L., DePaola, A., y Jaykus, L. A. (2007). An overview of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6(4), 120-144.

Dziejman, M., Balon, E., Boyd, D., Fraser, C. M., Heidelberg, J. F., y Mekalanos, J. J. (2002). Comparative genomic analysis of *Vibrio cholerae*: genes that correlate with cholera endemic and pandemic disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(3), 1556-1561.

Eagon, R. G. (1962). *Pseudomonas natriegens*, a marine bacterium with a generation time of less than 10 minutes. *Journal of bacteriology*, 83(4), 736-737.

Eiler, A., Gonzalez-Rey, C., Allen, S., y Bertilsson, S. (2007). Growth response of *Vibrio cholerae* and other *Vibrio spp.* to cyanobacterial dissolved organic matter and temperature in brackish water. *FEMS microbiology ecology*, 60(3), 411-418.

Eiler, A., Johansson, M., and Bertilsson, S. (2006). Environmental influences on *Vibrio* populations in northern temperate and boreal coastal waters (Baltic and Skagerrak Seas). *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 6004–6011.

Eilers, H., Pernthaler, J., Glöckner, F. O., y Amann, R. (2000). Culturability and in situ abundance of pelagic bacteria from the North Sea. *Applied and environmental microbiology*, 66(7), 3044-3051.

Esteves, K., Hervio-Heath, D., Mosser, T., Rodier, C., Tournoud, M. G., Jumas-Bilak, E., y Monfort, P. (2015). Rapid proliferation of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, and *Vibrio cholerae* during freshwater flash floods in French Mediterranean coastal lagoons. *Applied and environmental microbiology*, 81(21), 7600-7609.

Evans, F. F., Egan, S., y Kjelleberg, S. (2008). Ecology of type II secretion in marine *gammaproteobacteria*. *Environmental microbiology*, 10(5), 1101-1107.

Farmer, J. J. (2006). The family *Vibrionaceae*. In *The prokaryotes* (pp. 495-507). Springer, New York, NY.

Faruque, S. M., Albert, M. J., y Mekalanos, J. J. (1998). Epidemiology, Genetics, and Ecology of Toxigenic *Vibrio cholerae*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62(4), 1301-1314.

Flemming, H. C., y Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623.

Frischkorn, K. R., Stojanovski, A., y Paranjpye, R. (2013). *Vibrio parahaemolyticus* type IV pili mediate interactions with diatom-derived chitin and point to an unexplored mechanism of environmental persistence. *Environ. Microbiol.* 15, 1416–1427.

Froelich, B., Bowen, J., Gonzalez, R., Snedeker, A., y Noble, R. (2013). Mechanistic and statistical models of total *Vibrio* abundance in the Neuse River Estuary. *Water Res.* 47, 5783–5793.

Fuhrman, J. A. (2009). Microbial community structure and its functional implications. *Nature*, 459(7244), 193.

Fuhrman, J.A., Hagström, Å. 2008. Bacterial and archaeal community structure and its patterns. En *Microbial ecology of the oceans*, ed.

Gil, A. I., Louis, V. R., Rivera, I. N., Lipp, E., Huq, A., Lanata, C. F., y Colwell, R. R. (2004). Occurrence and distribution of *Vibrio cholerae* in the coastal environment of Peru. *Environmental microbiology*, 6(7), 699-706.

Gibbons SM, Caporaso JG, Pirrung M, Field D, Knight R, Gilbert JA. (2013). Evidence for a persistent microbial seed bank throughout the global ocean. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110:4651–4655.

Gobet A, Boetius A, Ramette A. (2014). Ecological coherence of diversity patterns derived from classical fingerprinting and Next Generation Sequencing techniques. *Environ. Microbiol.* 16: 2672–2681.

Good, I. J. (1953). The population frequencies of species and the estimation of population parameters. *Biometrika*, 40(3-4), 237-264.

Gooday, G. W. (1990). The ecology of chitin degradation. In *Advances in microbial ecology* (pp. 387-430). Springer, Boston, MA.

Gordon, K. V., Vickery, M. C., DePaola, A., Staley, C., y Harwood, V. J. (2008). Real-time PCR assays for quantification and differentiation of *Vibrio vulnificus* strains in oysters and water. *Applied and environmental microbiology*, 74(6), 1704-1709.

Grimes, D. J., Brayton, P., Colwell, R. R., y Gruber, S. H. (1985). *Vibriosis* as autochthonous flora of neritic sharks. *Systematic and Applied Microbiology*, 6(2), 221-226.

Grimes, D. J., Jacobs, D., Swartz, D. G., Brayton, P. R., y Colwell, R. R. (1993). Numerical taxonomy of gram-negative, oxidase-positive rods from *carcharhinid* sharks. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 43(1), 88-98.

Grundmann, H., Hori, S., y Tanner, G. (2001). Determining confidence intervals when measuring genetic diversity and the discriminatory abilities of typing methods for microorganisms. *Journal of clinical microbiology*, 39(11), 4190-4192.

Guindon, S., Delsuc, F., Dufayard, J. F., y Gascuel, O. (2009). Estimating maximum likelihood phylogenies with PhyML. *Bioinformatics for DNA sequence analysis*, 113-137.

Gulig, P. A., Bourdage, K. L., y Starks, A. M. (2005). Molecular pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *The Journal of Microbiology*, 43(1), 118-131.

Hall, T. A. (2001). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.

Hazen, T. H., Pan, L., Gu, J. D., y Sobecky, P. A. (2010). The contribution of mobile genetic elements to the evolution and ecology of Vibrios. *FEMS microbiology ecology*, 74(3), 485-499.

Hedlund, B. P., y Staley, J. T. (2001). *Vibrio cyclotrophicus* sp. nov., a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-degrading marine bacterium. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(1), 61-66.

Hill, T. C., Walsh, K. A., Harris, J. A., y Moffett, B. F. (2003). Using ecological diversity measures with bacterial communities. *FEMS microbiology ecology*, 43(1), 1-11.

Honda, T., y Iida, T. (1993). The pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* and the role of the thermostable direct haemolysin and related haemolysins. *Reviews in Medical Microbiology*, 4(2), 106-113.

Hong, S. H., Bunge, J., Jeon, S. O., y Epstein, S. S. (2006). Predicting microbial species richness. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(1), 117-122.

Horseman, M. A., y Surani, S. (2011). A comprehensive review of *Vibrio vulnificus*: an important cause of severe sepsis and skin and soft-tissue infection. *International Journal of Infectious Diseases*, 15(3), e157-e166.

Hsieh, J. L., Fries, J. S., y Noble, R. T. (2007). *Vibrio* and phytoplankton dynamics during the summer of 2004 in a eutrophying estuary. *Ecological Applications*, 17(sp5), S102-S109.

Hsieh, J. L., Fries, J. S., y Noble, R. T. (2008). Dynamics and predictive modelling of *Vibrio spp.* in the Neuse River Estuary, North Carolina, USA. *Environmental Microbiology*, 10(1), 57-64.

Huq, A., Small, E. B., West, P. A., Huq, M. I., Rahman, R., y Colwell, R. R. (1983). Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Applied and environmental microbiology*, 45(1), 275-283.

Hunt, D. E., Gevers, D., Vahora, N. M., y Polz, M. F. (2008). Conservation of the chitin utilization pathway in the *Vibrionaceae*. *Applied and environmental microbiology*, 74(1), 44-51.

Hyma, K. E., Lacher, D. W., Nelson, A. M., Bumbaugh, A. C., Janda, J. M., Strockbine, N. A., ... y Whittam, T. S. (2005). Evolutionary genetics of a new pathogenic *Escherichia* species: *Escherichia albertii* and related *Shigella boydii* strains. *Journal of bacteriology*, 187(2), 619-628.

IHO. International Hydrographic Organisation, y Intergovernmental Oceanographic Commission. (2008). Standardization of Undersea Feature Names: Guidelines Proposal form Terminology (4ta ed.).

Jaksic, F. (2007). *Ecología de comunidades*. Ediciones UC.

Jiang, S. C., y Fu, W. (2001). Seasonal abundance and distribution of *Vibrio cholerae* in coastal waters quantified by a 16S-23S intergenic spacer probe. *Microbial ecology*, 42(4), 540-548.

Johnson, C. N., Bowers, J. C., Griffitt, K. J., Molina, V., Clostio, R. W., Pei, S., Laws, E., Paranjpye, R. N., Strom, M. S., Chen, A., Hasan, N. A., Huq, A., Noriega III, N. F., Grimes, D. J., y Colwell, R. R. (2012). Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in the coastal and estuarine waters of Louisiana, Maryland, Mississippi, and Washington (United States). *Applied and environmental microbiology*, 78(20), 7249-7257.

Johnson, C. N., Flowers, A. R., Noriega, N. F., Zimmerman, A. M., Bowers, J. C., DePaola, A., *et al.* (2010). Relationships between environmental factors and pathogenic vibrios in the northern Gulf of Mexico. *Applied and environmental microbiology*, 76(21), 7076-7084.

Johnson RM, Weisrock WP (1969) *Hyphomicrobium indicum sp. nov.* (Hyphomicrobiaceae Douglas). *International Journal of Systematic Bacteriology*, 19, 295-307.

Jones, M. K., y Oliver, J. D. (2009). *Vibrio vulnificus*: disease and pathogenesis. *Infection and immunity*, 77(5), 1723-1733.

Kaneko, T., y Colwell, R. R. (1973). Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake bay. *Journal of bacteriology*, 113(1), 24-32.

Kaneko, T., y Colwell, R. R. (1975). Adsorption of *Vibrio parahaemolyticus* onto chitin and copepods. *Applied microbiology*.

Karl, D. M., y Church, M. J. (2014). Microbial oceanography and the Hawaii Ocean time-series programme. *Nature Reviews Microbiology*, 12, 699–713.

Karl, D. M. (2007). Microbial oceanography: Paradigms, processes and promise. *Nature Reviews Microbiology*, 5, 759–769.

Karlsson, M., y Stenlid, J. (2009). Comparative evolutionary histories of fungal chitinases. In *Evolutionary biology: concept, modeling, and application* (pp. 323-337). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Kelly, M. T. (1982). Effect of temperature and salinity on *Vibrio (Beneckea) vulnificus* occurrence in a Gulf Coast environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(4), 820-824.

Kim, M., Oh, H. S., Park, S. C., y Chun, J. (2014). Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, 346–351.

Kirschner, A. K. T., Schauer, S., Steinberger, B., Wilhartitz, I., Grim, C. J., Huq, A., Colwell, R. R., Herzig, A., y Sommer, R. (2011). Interaction of *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 with copepods, cladocerans and competing bacteria in the large alkaline lake Neusiedler See, Austria. *Microbial Ecology*, 61, 496–506.

Kirschner A., Schlesinger, J., Farnleitner A. H., Hornek, R., Süß, B., Golda, B., Herzig, A y Reitner, B. (2008). Rapid growth of planktonic *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 strains in a large alkaline lake in Austria: dependence on temperature and dissolved organic carbon quality. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 2004–2015.

Kita-Tsukamoto, K., Oyaizu, H., Nanba, K., y Simidu, U. (1993). Phylogenetic relationships of marine bacteria, mainly members of the family *Vibrionaceae*, determined on the basis of 16S rRNA sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 43(1), 8-19.

Koh, E. G., Huyn, J. H., y LaRock, P. A. (1994). Pertinence of indicator organisms and sampling variables to *Vibrio* concentrations. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(10), 3897-3900.

Konstantinidis, K. T., y Tiedje, J. M. (2004). Trends between gene content and genome size in prokaryotic species with larger genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(9), 3160-3165.

Konstantinidis, K. T., Serres, M. H., Romine, M. F., Rodrigues, J. L., Auchtung, J., McCue, L. A., y Fredrickson, J. K. (2009). Comparative

systems biology across an evolutionary gradient within the *Shewanella* genus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(37), 15909-15914.

Krebs, C. J. (1999). *Ecological methodology*. Exeter Software New York. Google Scholar.

Labella, A. M., Arahall, D. R., Castro, D., Lemos, M. L., y Borrego, J. J. (2017). Revisiting the genus *Photobacterium*: taxonomy, ecology and pathogenesis. *Int Microbiol*, 20, 1-10.

Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*. 2007 Nov 1;23(21):2947-8.

Li, X., y Roseman, S. (2004). The chitinolytic cascade in vibrios is regulated by chitin oligosaccharides and a two-component chitin catabolic sensor/kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(2), 627-631.

Lin, H., Yu, M., Wang, X., y Zhang, X. H. (2018). Comparative genomic analysis reveals the evolution and environmental adaptation strategies of vibrios. *BMC genomics*, 19(1), 135.

Lin, M., y Schwarz, J. R. (2003). Seasonal shifts in population structure of *Vibrio vulnificus* in an estuarine environment as revealed by partial 16S ribosomal DNA sequencing. *FEMS Microbiology Ecology*, 45(1), 23-27.

Linkous, D. A., y Oliver, J. D. (1999). Pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *FEMS Microbiology Letters*, 174(2), 207-214.

Lipp, E. K., Huq, A., y Colwell, R. R. (2002). Effects of global climate on infectious disease: the cholera model. *Clinical microbiology reviews*, 15(4), 757-770.

Little, A. E., Robinson, C. J., Peterson, S. B., Raffa, K. F., y Handelsman, J. (2008). Rules of engagement: interspecies interactions that regulate microbial communities. *Annu. Rev. Microbiol.*, 62, 375-401.

López-Hermoso, C., Rafael, R., Sánchez-Porro, C., y Ventosa, A. (2018). *Salinivibrio kushneri* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from salterns. *Systematic and applied microbiology*, 41(3), 159-166.

Lozupone, C. A., Hamady, M., Kelley, S. T., y Knight, R. (2007). Quantitative and qualitative β diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities. *Applied and environmental microbiology*, 73(5), 1576-1585.

Lukjancenko, O., y Ussery, D. W. (2014). *Vibrio* chromosome-specific families. *Frontiers in microbiology*, 5, 73.

Magurran, A. E. (2013). *Measuring biological diversity*. John Wiley y Sons.

Malik, S., Beer, M., Megharaj, M., y Naidu, R. (2008). The use of molecular techniques to characterize the microbial communities in contaminated soil and water. *Environmental international*, 34, 265-276.

Markov, E. Y., Kulikalova, E. S., Urbanovich, L. Y., Vishnyakov, V. S., y Balakhonov, S. V. (2015). Chitin and products of its hydrolysis in *Vibrio cholerae* ecology. *Biochemistry (Moscow)*, 80(9), 1109-1116.

McMurdie, P. J., y Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one*, 8(4), e61217.

Meibom, K. L., Blokesch, M., Dolganov, N. A., Wu, C. Y., y Schoolnik, G. K. (2005). Chitin induces natural competence in *Vibrio cholerae*. *Science*, 310(5755), 1824-1827.

Meibom, K. L., Li, X. B., Nielsen, A. T., Wu, C. Y., Roseman, S., y Schoolnik, G. K. (2004). The *Vibrio cholerae* chitin utilization program. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(8), 2524-2529.

Mekalanos, J. J., Swartz, D. J., Pearson, G. D., Harford, N., Groyne, F., y de Wilde, M. (1983). *Cholera* toxin genes: nucleotide sequence, deletion analysis and vaccine development. *Nature*, 306(5943), 551-557.

Miller, C. S., Handley, K. M., Wrighton, K. C., Frischkorn, K. R., Thomas, B. C., y Banfield, J. F. (2013). Short-read assembly of full-length 16S amplicons reveals bacterial diversity in subsurface sediments. *PLoS One*, 8(2), e56018.

Miyamoto, Y., Kato, T., Obara, Y., Akiyama, S., Takizawa, K., y Yamai, S. (1969). In vitro hemolytic characteristic of *Vibrio parahaemolyticus*: its close correlation with human pathogenicity. *Journal of bacteriology*, 100(2), 1147-1149.

Mourino-Pérez, R. R., Worden, A. Z., y Azam, F. (2003). Growth of *Vibrio cholerae* O1 in red tide waters off California. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(11), 6923-6931.

Mueller, R. S., Bryson, S., Kieft, B., Li, Z., Pett-Ridge, J., Chavez, F., Hettich, R. L., Pan, C., y Mayali, X. (2015). Metagenome sequencing of a coastal marine microbial community from Monterey Bay. *Scientific data*, 2, 150051.

National Aeronautics and Space Administration (NASA). (s.f.). Ocean Color Web. Recuperado de <https://oceancolor.gsfc.nasa.gov>

Near, T. J., Eytan, R. I., Dornburg, A., Kuhn, K. L., Moore, J. A., Davis, M. P. y Smith, W. L. (2012). Resolution of ray-finned fish phylogeny and timing of diversification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(34), 13698-13703.

Nigro, O. D., Hou, A., Vithanage, G., Fujioka, R. S., y Steward, G. F. (2011). Temporal and spatial variability in culturable pathogenic *Vibrio spp.* in Lake Pontchartrain, Louisiana, USA, following Hurricanes Katrina and Rita. *Applied and environmental microbiology*, 77(16), 5384-5393.

Nilsson, W. B., Paranjypte, R. N., DePaola, A., y Strom, M. S. (2003). Sequence polymorphism of the 16S rRNA gene of *Vibrio vulnificus* is a possible indicator of strain virulence. *Journal of clinical microbiology*, 41(1), 442-446.

Nishibuchi, M., y Kaper, J. B. (1995). Thermostable direct hemolysin gene of *Vibrio parahaemolyticus*: a virulence gene acquired by a marine bacterium. *Infection and immunity*, 63(6), 2093.

Nogi, Y., Masui, N., y Kato, C. (1998). *Photobacterium profundum sp. nov.*, a new, moderately barophilic bacterial species isolated from a deep-sea sediment. *Extremophiles*, 2(1), 1-7.

Oberbeckmann, S., Fuchs, B. M., Meiners, M., Wichels, A., Wiltshire, K. H., y Gerdt, G. (2012). Seasonal dynamics and modeling of a *Vibrio* community in coastal waters of the North Sea. *Microbial Ecology*, 63(3), 543-551.

Oliver, J. D. (2005). The viable but nonculturable state in bacteria. *The Journal of Microbiology*, 43(1), 93-100.

Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., y Ugene Team. (2012). Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 28(8), 1166-1167

Orikoshi, H., Nakayama, S., Miyamoto, K., Hanato, C., Yasuda, M., Inamori, Y., y Tsujibo, H. (2005). Roles of four chitinases (ChiA, ChiB, ChiC, and ChiD) in the chitin degradation system of marine bacterium *Alteromonas sp. strain O-7*. *Applied and environmental microbiology*, 71(4), 1811-1815.

Owens, L., y Busico-Salcedo, N. (2006). *Vibrio Harveyi*: pretty problems in paradise. In *The Biology of Vibrios* (pp. 266-280). ASM Press.

Poli, A., Finore, I., Romano, I., Gioiello, A., Lama, L., y Nicolaus, B. (2017). Microbial diversity in extreme marine habitats and their biomolecules. *Microorganisms*, 5(2), 25.

Pontes, D. S., Lima-Bittencourt, C. I., Chartone-Souza, E., y Nascimento, A. M. A. (2007). Molecular approaches: advantages and artifacts in assessing bacterial diversity. *Journal of industrial microbiology y biotechnology*, 34(7), 463-473.

Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular biology and evolution*, 25(7), 1253-1256.

Prasanthan, V., Udayakumar, P., Sarathkumar, y Ouseph, P. P. (2011). Influence of abiotic environmental factors on the abundance and distribution of *Vibrio* species in coastal waters of Kerala, India. *Indian Journal of Marine Sciences*, 40(5), 587-592.

Prosser, J. I. (2002). Molecular and functional diversity in soil microorganisms. *Plant and Soil*, 244(1-2), 9-17.

Qin, Q. L., Xie, B. B., Yu, Y., Shu, Y. L., Rong, J. C., Zhang, Y. J., ... y Zhou, B. C. (2014). Comparative genomics of the marine bacterial genus *Glaciicola* reveals the high degree of genomic diversity and genomic characteristic for cold adaptation. *Environmental microbiology*, 16(6), 1642-1653.

Rambaut, A. (2009). FigTree v1. 3.1. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.

Ramette, A., Tiedje, J. M., y Boetius, A. (2009). Impact of space, time and complex environments on microbial communities. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(Suppl 1), 60-62.

Ramirez, G. D., Buck, G. W., Smith, A. K., Gordon, K. V., y Mott, J. B. (2009). Incidence of *Vibrio vulnificus* in estuarine waters of the south Texas Coastal Bend region. *Journal of Applied Microbiology*, 107(6), 2047-2053.

Reid, S. D., Herbelin, C. J., Bumbaugh, A. C., Selander, R. K., y Whittam, T. S. (2000). Parallel evolution of virulence in pathogenic *Escherichia coli*. *Nature*, 406(6791), 64.

Rivas, R., García-Fraile, P., Mateos, P. F., Martínez-Molina, E., y Velazquez, E. (2006). *Photobacterium halotolerans* sp. nov., isolated from Lake Martel in Spain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(5), 1067-1071.

Rivera, S., Lugo, T., y Hazen, T. C. (1988). Autecology of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in tropical waters (No. DP-MS-88-8). El du Pont de Nemours and Co., Savannah River Lab., Aiken, SC (United States).

Rockne, K. J., Chee-Sanford, J. C., Sanford, R. A., Hedlund, B. P., Staley, J. T., y Strand, S. E. (2000). Anaerobic naphthalene degradation by microbial pure cultures under nitrate-reducing conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(4), 1595-1601.

Rodríguez García Liliana (2017). Identificación y diversidad del género *Vibrio* a partir del ARNr 16S, en Cuatro Ciénegas, Coahuila, México. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma de México. Mexico, CDMX.

Rosche, T. M., Binder, E. A., y Oliver, J. D. (2010). *Vibrio vulnificus* genome suggests two distinct ecotypes. *Environmental Microbiology Reports*, 2(1), 128-132.

Rosselló-Mora, R., y Amann, R. (2001). The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 25(1), 39-67.

Ruby, E. G., y McFall-Ngai, M. J. (1999). Oxygen-utilizing reactions and symbiotic colonization of the squid light organ by *Vibrio fischeri*. *Trends in Microbiology*, 7(10), 414-420.

Rothenbacher, F. P., y Zhu, J. (2014). Efficient responses to host and bacterial signals during *Vibrio cholerae* colonization. *Gut Microbes*, 5(1), 120-128.

Sakazaki, R., Iwanami, S., y Tamura, K. (1968). Studies on the enteropathogenic, facultatively halophilic bacteria, *Vibrio parahaemolyticus*. *Japanese Journal of Medical Science and Biology*, 21(5), 313-324.

Sawabe, T., Kita-Tsukamoto, K., y Thompson, F. L. (2007). Inferring the evolutionary history of vibrios by means of multilocus sequence analysis. *Journal of bacteriology*, 189(21), 7932-7936.

Sawabe, T., Ogura, Y., Matsumura, Y., Gao, F., Amin, A. K. M., Mino, S., y Satomi, M. (2013). Updating the *Vibrio* clades defined by multilocus sequence phylogeny: proposal of eight new clades, and the description of *Vibrio tritonius* sp. nov. *Frontiers in microbiology*, 4, 414.

Schloss, P. D., y Handelsman, J. (2005). Introducing DOTUR, a computer program for defining operational taxonomic units and estimating species richness. *Applied and environmental microbiology*, 71(3), 1501-1506.

Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., y Sahl, J. W. (2009). Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and environmental microbiology*, 75(23), 7537-7541.

Seo, H. J., Bae, S. S., Lee, J. H., y Kim, S. J. (2005). *Photobacterium frigidiphilum* sp. nov., a psychrophilic, lipolytic bacterium isolated from deep-sea sediments of Edison Seamount. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(4), 1661-1666.

Shannon, C. E., y Weaver, W. (1963). *The mathematical theory of communication*. Urbana, IL: University of Illinois Press.

Shapiro, R. L., Altekruze, S., Hutwagner, L., Bishop, R., Hammond, R., Wilson, S., y Vibrio Working Group. (1998). The role of Gulf Coast oysters

harvested in warmer months in *Vibrio vulnificus* infections in the United States, 1988–1996. *Journal of Infectious Diseases*, 178(3), 752-759.

Schneider, D. R., y Parker, C. D. (1982). Purification and characterization of the mucinase of *Vibrio cholerae*. *Journal of Infectious Diseases*, 145(4), 474-482.

Simidu, U., Taga, N., Colwell, R. R., y Schwarz, J. R. (1980). Heterotrophic bacterial flora of the seawater from the Nansei Shoto (Ryukyu Retto) area. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 46, 505-510.

Simpson, E. H. (1949). Measurement of diversity. *Nature*, 163(4148), 688.

Singleton, F. L., Attwell, R., Jangi, S., y Colwell, R. R. (1982). Effects of temperature and salinity on *Vibrio cholerae* growth. *Applied and environmental microbiology*, 44(5), 1047-1058.

Stackebrandt, E., y Ebers, J. (2006). Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiology Today*, 33, 152-155.

Sunagawa, S., Coelho, L. P., Chaffron, S., Kultima, J. R., Labadie, K., Salazar, G., y Bork, P. (2015). Structure and function of the global ocean microbiome. *Science*, 348.

Sur, D., Dutta, P., Nair, G. B., y Bhattacharya, S. K. (2000). Severe cholera outbreak following floods in a northern district of West Bengal. *Indian Journal of Medical Research*, 112, 178.

Svitil, A. L., Chadhain, S. M. N. R., Moore, J. A., y Kirchman, D. L. (1997). Chitin degradation proteins produced by the marine bacterium *Vibrio Harveyi* growing on different forms of chitin. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(2), 408-413.

Tamplin, M. L. (2001). Coastal vibrios: identifying relationships between environmental condition and human disease. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 7(5), 1437-1445.

Tamplin, M. L., Gauzens, A. L., Huq, A., Sack, D. A., y Colwell, R. R. (1990). Attachment of *Vibrio cholerae* serogroup O1 to zooplankton and phytoplankton of Bangladesh waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1977-1980.

Tanner, A. R., Fuchs, D., Winkelmann, I. E., Gilbert, M. T. P., Pankey, M. S., Ribeiro, Â. M., ... y Pisani, D. (2017). Molecular clocks indicate turnover and diversification of modern coleoid cephalopods during the Mesozoic Marine Revolution. *Proc. R. Soc. B*, 284(1850), 20162818.

Thompson, C. C., Vicente, A. C. P., Souza, R. C., Vasconcelos, A. T. R., Vesth, T., Alves, N., y Thompson, F. L. (2009). Genomic taxonomy of vibrios. *BMC Evolutionary Biology*, 9(1), 258.

Thompson, F. L., Austin, B., y Swings, J. (2006). *The biology of vibrios*. ASM press.

Thompson, F. L., Gevers, D., Thompson, C. C., Dawyndt, P., Naser, S., Hoste, B., y Swings, J. (2005). Phylogeny and molecular identification of vibrios on the basis of multilocus sequence analysis. *Applied and environmental microbiology*, 71(9), 5107-5115.

Thompson, F. L., Hoste, B., Vandemeulebroecke, K., y Swings, J. (2001). Genomic diversity amongst *Vibrio* isolates from different sources determined by fluorescent amplified fragment length polymorphism. *Systematic and applied microbiology*, 24(4), 520-538.

Thompson, F. L., Iida, T., y Swings, J. (2004). Biodiversity of vibrios. *Microbiology and molecular biology reviews*, 68(3), 403-431.

Thompson, J. D., Higgins, D. G., y Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic acids research*, 22(22), 4673-4680.

Turner, J. W., Good, B., Cole, D., y Lipp, E. K. (2009). Plankton composition and environmental factors contribute to *Vibrio* seasonality. *ISME J.* 3, 1082–1092.

Urakawa, H., Kita-Tsukamoto, K., Steven, S. E., Ohwada, K., y Colwell, R. R. (1998). A proposal to transfer *Vibrio marinus* (Russell 1891) to a new genus *Moritella gen. nov.* as *Moritella marina* comb. nov. *FEMS microbiology letters*, 165(2), 373-378.

Urakawa, H., Kita-Tsukamoto, K., y Ohwada, K. (1999). 16S rDNA restriction fragment length polymorphism analysis of psychrotrophic vibrios from Japanese coastal water. *Canadian journal of microbiology*, 45(12), 1001-1007.

Urakawa, H., y Rivera, I. N. G. (2006). Aquatic environment. *The biology of vibrios*, 173-189.

Valenzuela-González, F., Casillas-Hernández, R., Villalpando, E., Vargas-Albores, F. (n.d.). Bacterial Diversity in Sediments and Water from Two Mexican Coastal Lagoons. *Advances in Microbiology*, 11(02), 119-138.

Vázquez-Rosas-Landa, M., Ponce-Soto, G. Y., Aguirre-Liguori, J. A., Thakur, S., Scheinvar, E., Barrera-Redondo, J., Souza, V. (2020). Population genomics of *Vibrionaceae* isolated from an endangered oasis reveals local adaptation after an environmental perturbation. *BMC genomics*, 21(1), 1-18.

Verhoef, H. A., y Morin, P. J. (Eds.). (2010). **Community ecology: processes, models, and applications**. Oxford University Press.

Vickery, M. C., Nilsson, W. B., Strom, M. S., Nordstrom, J. L., y DePaola, A. (2007). A real-time PCR assay for the rapid determination of 16S rRNA genotype in *Vibrio vulnificus*. *Journal of microbiological methods*, 68(2), 376-384.

Vos M. (2011). A species concept for bacteria based on adaptive divergence. *Trends Microbiol.* 19: 1–7.

Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., y Whitman, W. B. (Eds.). (2011). **Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 3: The Firmicutes (Vol. 3)**. Springer Science y Business Media.

Wang, Q., Garrity, G. M., Tiedje, J. M., y Cole, J. R. (2007). Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and environmental microbiology*, 73(16), 5261-5267.

Xu, H. S., Roberts, N., Singleton, F. L., Attwell, R. W., Grimes, D. J., y Colwell, R. R. (1982). Survival and viability of nonculturable *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in the estuarine and marine environment. *Microbial ecology*, 8(4), 313-323.

Yarza, P., Yilmaz, P., Pruesse, E., Glockner, F. O., Ludwig, W., Schleifer, K. H., Whitman, W. B., Euzéby, J., Amann, R., y Rossello-Mora, R. (2014). Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nat. Rev. Microbiol.* 12: 635–645.

Yooseph, S., Neelson, K. H., Rusch, D. B., McCrow, J. P., Dupont, C. L., Kim, M., y Williamson, S. J. (2010). Genomic and functional adaptation in surface ocean planktonic prokaryotes. *Nature*, 468(7320), 60.

Youngren-Grimes, B. L., Grimes, D. J., y Colwell, R. R. (1988). Growth of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Vibrio vulnificus* under strict anaerobic conditions. *Systematic and Applied Microbiology*, 11(1), 13-15.

Youssef, N., Sheik, C. S., Krumholz, L. R., Najar, F. Z., Roe, B. A., y Elshahed, M. S. (2009). Comparison of species richness estimates obtained using nearly complete fragments and simulated pyrosequencing-generated fragments in 16S rRNA gene-based environmental surveys. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(16), 5227-5236.

Zengler, K., Toledo, G., Rappé, M., Elkins, J., Mathur, E. J., Short, J. M., y Keller, M. (2002). Cultivating the uncultured. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(24), 15681-15686.

Zimmerman, A. M., DePaola, A., Bowers, J. C., Krantz, J. A., Nordstrom, J. L., Johnson, C. N., y Grimes, D. (2007). Variability of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* densities in Northern Gulf of Mexico water and oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 7589-7596.

.11.Suplemento

.11.1. Tabla S1. Sitios de muestreo de los vibrios marinos y continentales

SITIO	LATITUD	LONGITUD	REGIÓN	ZONA BIOMA	TEMPERATURA	
GALATHEA 3	-66.7706	-76.4383	-35°a-90°	ALTA OCEANO	2	°C
GALATHEA 3	-64.0947	-62.8228	-35°a-90°	ALTA PLATAFORMA	3	°C
GALATHEA 3	-63.9063	-61.7043	-35°a-90°	ALTA OCEANO	3	°C
GALATHEA 3	-61.1793	-153.2953	-35°a-90°	ALTA OCEANO	-5	°C
GALATHEA 3	-54.2928	-170.652	-35°a-90°	ALTA OCEANO	-5	°C
GALATHEA 3	-50.4498	-74.8912	-35°a-90°	ALTA PLATAFORMA	11	°C
GALATHEA 3	-48.915	178.1056	-35°a-90°	ALTA OCEANO	9	°C
GALATHEA 3	-40.734	147.3835	-35°a-90°	ALTA PLATAFORMA	15	°C
GALATHEA 3	-39.0286	61.3505	-35°a-90°	ALTA OCEANO	-5	°C
GALATHEA 3	-38.5762	-74.4517	-35°a-90°	ALTA OCEANO	12	°C
GALATHEA 3	-36.0034	170.8605	-35°a-90°	ALTA OCEANO	18	°C
GALATHEA 3	-35.3413	79.9641	-35°a-90°	ALTA OCEANO	12	°C
GALATHEA 3	-33	128.3928	0°a-35°	BAJA OCEANO	18	°C
GALATHEA 3	-29.2856	-71.883	0°a-35°	BAJA OCEANO	20	°C
GALATHEA 3	-20.0576	-70.7545	0°a-35°	BAJA OCEANO	20	°C
GALATHEA 3	-20.0568	-70.7545	0°a-35°	BAJA OCEANO	20	°C
GALATHEA 3	-20.0568	-70.755	0°a-35°	BAJA OCEANO	20	°C
GALATHEA 3	-20.0521	115.8123	0°a-35°	BAJA OCEANO	23	°C
GALATHEA 3	-19.7461	114.8573	0°a-35°	BAJA OCEANO	23	°C
GALATHEA 3	-19.2205	10.8597	0°a-35°	BAJA OCEANO	24	°C
GALATHEA 3	-17.0857	-72.419	0°a-35°	BAJA OCEANO	22.5	°C
GALATHEA 3	-16.0604	119.3541	0°a-35°	BAJA OCEANO	25	°C
GALATHEA 3	-16.0227	119.3226	0°a-35°	BAJA OCEANO	26	°C
GALATHEA 3	-15.5482	-75.6542	0°a-35°	BAJA OCEANO	23	°C
GALATHEA 3	-15.5004	-75.7456	0°a-35°	BAJA OCEANO	24	°C
GALATHEA 3	-15.2329	156.665	0°a-35°	BAJA OCEANO	28	°C
GALATHEA 3	-14.2369	-76.6021	0°a-35°	BAJA OCEANO	20	°C
GALATHEA 3	-14.2295	-76.6073	0°a-35°	BAJA OCEANO	21	°C
GALATHEA 3	-14.159	-77.4004	0°a-35°	BAJA OCEANO	25	°C
GALATHEA 3	-13.8718	-76.8039	0°a-35°	BAJA OCEANO	25	°C
GALATHEA 3	-13.818	-76.7648	0°a-35°	BAJA OCEANO	22.5	°C
GALATHEA 3	-13.0231	-77.7652	0°a-35°	BAJA OCEANO	25	°C
GALATHEA 3	-12.5119	7.807017	0°a-35°	BAJA OCEANO	20	°C
GALATHEA 3	-12.4436	-77.6157	0°a-35°	BAJA OCEANO	25	°C
GALATHEA 3	-12.0003	-77.4998	0°a-35°	BAJA PLATAFORMA	26	°C
GALATHEA 3	-10.3454	157.7956	0°a-35°	BAJA OCEANO	28	°C
GALATHEA 3	-9.49725	-79.6658	0°a-35°	BAJA OCEANO	26	°C
GALATHEA 3	-9.108	156.8595	0°a-35°	BAJA OCEANO	26	°C
GALATHEA 3	-8.1005	156.8451	0°a-35°	BAJA OCEANO	22	°C
GALATHEA 3	-8.0692	155.8781	0°a-35°	BAJA OCEANO	30	°C
GALATHEA 3	-7.4315	5.5461	0°a-35°	BAJA OCEANO	20	°C
GALATHEA 3	0.8812	-88.6031	0°a+35°	BAJA OCEANO	25	°C
GALATHEA 3	1.49997	-5.35083	0°a+35°	BAJA OCEANO	24	°C
GALATHEA 3	1.6207	-10.5021	0°a+35°	BAJA OCEANO	24	°C
GALATHEA 3	3.2014	-2.8197	0°a+35°	BAJA OCEANO	22	°C

SITIO	LATITUD	LONGITUD	REGIÓN	ZONA BIOMA	TEMPERATURA
GALATHEA 3	4.57047	-1.72975	0°a+35°	BAJA OCEANO	20 °C
GALATHEA 3	4.8175	-0.4335	0°a+35°	BAJA OCEANO	24 °C
GALATHEA 3	4.9119	-0.3376	0°a+35°	BAJA OCEANO	23 °C
GALATHEA 3	4.9821	-84.5303	0°a+35°	BAJA OCEANO	28 °C
GALATHEA 3	5.32975	-84.1147	0°a+35°	BAJA OCEANO	28 °C
GALATHEA 3	6.66472	-80.9967	0°a+35°	BAJA OCEANO	26 °C
GALATHEA 3	12.2059	-21.0234	0°a+35°	BAJA OCEANO	30 °C
MANDOVI RIVER INDIA	15.503373	73.841246	0°a+35°	BAJA AGUA CONTINENTAL	30 °C
MAHAHUAL QUINTANA ROO	18.4222888	-87.7653634	0°a+35°	BAJA LITORAL	30 °C
MAHAHUAL QUINTANA ROO	18.4245583	-87.7645361	0°a+35°	BAJA LITORAL	30 °C
MAHAHUAL QUINTANA ROO	18.4247528	-87.7645389	0°a+35°	BAJA LITORAL	30 °C
MAHAHUAL QUINTANA ROO	18.499433	-87.470646	0°a+35°	BAJA LITORAL	S/N °C
MAHAHUAL QUINTANA ROO	18.499433	-87.470646	0°a+35°	BAJA LITORAL	S/N °C
MAHAHUAL QUINTANA ROO	18.713072	-87.709594	0°a+35°	BAJA LITORAL	30 °C
MAHAHUAL QUINTANA ROO	18.724099	-87.701189	0°a+35°	BAJA LITORAL	29 °C
LUNAR LAKE INDIA KJ	19.9766762	76.5081195	0°a+35°	BAJA AGUA CONTINENTAL	27 °C
LUNAR LAKE INDIA KJ	19.9766762	76.5081195	0°a+35°	BAJA AGUA CONTINENTAL	27 °C
GALATHEA 3	22.0442	-64.0048	0°a+35°	BAJA OCEANO	20 °C
GALATHEA 3	24.9615	-64.1688	0°a+35°	BAJA OCEANO	22 °C
GALATHEA 3	24.9963	-67.0246	0°a+35°	BAJA OCEANO	24 °C
GALATHEA 3	26.49	-64.071	0°a+35°	BAJA OCEANO	23 °C
LAGUNA DE CHURINCE CCC 2016	26.8525	-102.15278	0°a+36°	BAJA AGUA CONTINENTAL	29 °C
LAGUNA DE CHURINCE CCC 2017	26.8525	-102.15278	0°a+36°	BAJA AGUA CONTINENTAL	19 °C
LAGUNA DE CHURINCE CCC 2015	26.8525	-102.15278	0°a+35°	BAJA AGUA CONTINENTAL	25 °C
LOS HUNDIDOS(POZAS ROJAS) CCC	26.8704	-102.02018	0°a+35°	BAJA AGUA CONTINENTAL	S/N °C
POZA LA BECERRA CCC	26.87853	-102.13836	0°a+35°	BAJA AGUA CONTINENTAL	S/N °C
POZAS AZULES CCC 2017	26.9227	-102.1225	0°a+35°	BAJA AGUA CONTINENTAL	25 °C
GALATHEA 3	27.9217	-24.7357	0°a+35°	BAJA OCEANO	24 °C
BAHÍA DE KINO SONORA	28.85	-112	0°a+35°	BAJA LITORAL	22 °C
PUNTA CHUECA SONORA	29.01425	-112.160438	0°a+35°	BAJA LITORAL	24 °C
GALATHEA 3	33.7571	-25.4239	0°a+35°	BAJA OCEANO	22 °C
PACÍFICO	18.4669	-104.7423	0°a+35°	BAJA OCEANO	26.0 °C
PACÍFICO	20.2900	-105.8937	0°a+35°	BAJA OCEANO	16.6 °C
PACÍFICO	10.6125	-104.6507	0°a+35°	BAJA OCEANO	22.8 °C
PACÍFICO	18.7625	-104.5414	0°a+35°	BAJA OCEANO	24.1 °C
PACÍFICO	20.2900	-105.8937	0°a+35°	BAJA OCEANO	18.1 °C
PACÍFICO	18.9086	-104.3584	0°a+35°	BAJA PLATAFORMA	25.3 °C
PACÍFICO	18.7625	-104.5414	0°a+35°	BAJA OCEANO	17.2 °C
PACÍFICO	10.1984	103.6277	0°a+35°	BAJA OCEANO	19.4 °C
PACÍFICO	10.6125	-104.6507	0°a+35°	BAJA OCEANO	18.3 °C
PACÍFICO	11.9082	-103.3643	0°a+35°	BAJA OCEANO	16.3 °C
PACÍFICO	20.2863	-106.0723	0°a+35°	BAJA OCEANO	25.5 °C
PACÍFICO	18.9086	-104.3584	0°a+35°	BAJA PLATAFORMA	18.5 °C
PACÍFICO	20.2900	-105.8937	0°a+35°	BAJA OCEANO	25.9 °C
PACÍFICO	20.2915	-105.7026	0°a+35°	BAJA PLATAFORMA	17.0 °C
PACÍFICO	20.2902	-106.4252	0°a+35°	BAJA OCEANO	22.8 °C
PACÍFICO	20.2921	-105.7026	0°a+35°	BAJA PLATAFORMA	19.6 °C
CHINA QINGHAI LAKE CHINA	37	100.0022222	+35°a+90°	ALTA AGUA CONTINENTAL	S/N °C
CHEONGPYEONG LAKE KOREA	37.7248056	127.5239167	+35°a+90°	ALTA AGUA CONTINENTAL	S/N °C
GALATHEA 3	37.7364	-25.6586	+35°a+90°	ALTA PLATAFORMA	20 °C
MONO LAKE USA KJ808	38.0166668	-119.009444	+35°a+90°	ALTA AGUA CONTINENTAL	S/N °C
GALATHEA 3	40.6723	-28.8374	+35°a+90°	ALTA OCEANO	20 °C
GALATHEA 3	42.6047	-29.9597	+35°a+90°	ALTA OCEANO	19 °C
GALATHEA 3	43.0309	-66.2774	+35°a+90°	ALTA PLATAFORMA	-5 °C
GALATHEA 3	56.1863	-15.2343	+35°a+90°	ALTA OCEANO	5 °C
GALATHEA 3	58.8041	-3.0564	+35°a+90°	ALTA PLATAFORMA	-4 °C
GALATHEA 3	60.2664	-45.4307	+35°a+90°	ALTA PLATAFORMA	3 °C
GALATHEA 3	62.0382	-9.99592	+35°a+90°	ALTA OCEANO	8 °C
GALATHEA 3	62.1653	-16.5731	+35°a+90°	ALTA OCEANO	4 °C
GALATHEA 3	62.2569	-20.8819	+35°a+90°	ALTA OCEANO	4 °C
GALATHEA 3	62.5413	-40.5784	+35°a+90°	ALTA OCEANO	2 °C
GALATHEA 3	66.6666	-54.122	+35°a+90°	ALTA OCEANO	5 °C
GALATHEA 3	66.7494	-53.8954	+35°a+90°	ALTA OCEANO	5 °C

Tabla S1. Se muestran las ubicaciones de los distintos sitios de muestreo de las secuencias analizadas en este estudio (tanto las obtenidas en este estudio como las secuencias obtenidas de la literatura), las zonas bajas (+35 a 0° y de -35 a 0°) se encuentran más cercanas a la línea del Ecuador, las zonas altas (+35° a +90° y -35° a -90°) se encuentran más alejadas de la línea del Ecuador, solo los muestreos de Cuatro Ciénegas, tuvieron mediciones con Hydrolab, las temperaturas restantes se obtuvieron con el buscador de datos nivel 1 y 2 del Ocean Color Web, con las fechas y las coordenadas de los distintos sitios. Recuperado de <https://oceancolor.gsfc.nasa.gov/> y el programa Ncview 2.1.8 (Davis y Etnoyer, 2017).

.11.1.1 Mapa de calor de diversidad beta entre las 11 regiones de latitudes bajas y altas

Las regiones de latitudes bajas (Centro Norte y Centro Sur) presentan mayor disimilitud entre ellos (Figura S1), al contrario de las regiones de latitudes altas (Polo Norte y Polo Sur) que presentan menor disimilitud entre ellos. La región con mayor diversidad fue el ambiente Centro Norte litoral (latitud + 35° a + 0°), el ambiente Polo Sur (latitud - 35° a - 90°), región más alejada del ecuador tiene menor diversidad y complejidad, presentando de esta forma mayor equitatividad.

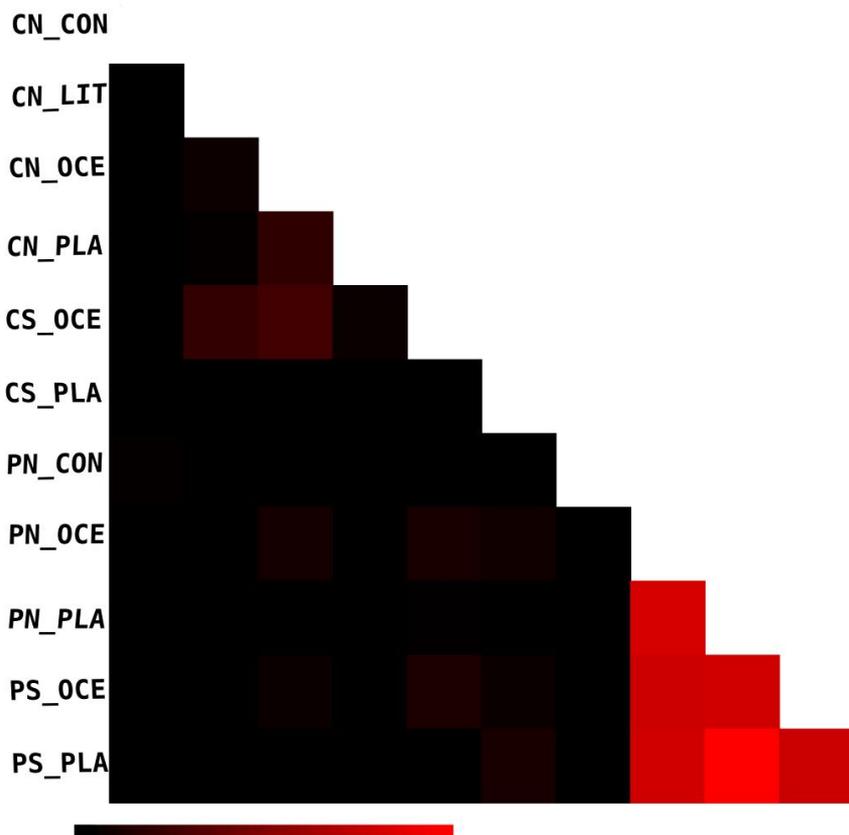


Figura S1. El mapa de calor (distancia 0.01) de diversidad beta de los 11 ambientes. los OTUs de este estudio, fueron definidos al 99% de identidad de secuencia. El mapa de calor de diversidad beta de los 11 ambientes, fue creado con el programa Mothur v.1.22.2, cada cuadro es una comparación por pares entre dos muestras de disimilitud de composición, usando la métrica de Bray-Curtis, el color de cada cuadro se encuentra escalado (0 al 1) entre negro y rojo según el grado de disimilitud , el color negro representa la mayor disimilitud, el rojo más claro la menor disimilitud entre ambientes.

.11.1.2 Comparación de similitud entre los ambientes Continente, Plataforma, Litoral y Océano

El análisis con Unifrac no Ponderada (Tabla S2), muestra las comparaciones pareadas de estructura genética, entre cuatro biomas: Continente (CON), Litoral (LIT), Océano (OCE) y Plataforma (PLA). La prueba Unifrac, apoya que los cuatro ambientes son diferentes genéticamente, ya que la estructura genética, entre cada uno es diferente. Los cuatro ambientes contienen en su mayoría taxones diferentes y las especies compartidas entre los Biomas son divergentes a nivel nucleotídico o son muy pocas para acercar la similitud genética entre ambientes, aun cuando Litoral y Océano comparten 8 OTUs, no es suficiente para que en esta prueba aparezcan como ambientes con estructuras genéticas similares.

Grupos	UWScore	UWSig
CON-LIT	0.984857	<0.0010
CON-OCE	0.938801	<0.0010
LIT-OCE	0.905789	<0.0010
CON-PLA	0.931846	<0.0010
LIT-PLA	0.957557	<0.0010
OCE-PLA	0.856767	<0.0010

Tabla S2. Prueba Unifrac no Ponderado (presencia y ausencia de cada OTUs) realizada con el programa Mothur v.1.22.2. Los 4 biomas contrastados son Continente (CON), Litoral (LIT), Océano (OCE) y Plataforma (PLA). Esta tabla muestra valores significativos menores a 0.0010 que indican que las comparaciones pareadas entre biomas de este estudio tienen estructuras genéticas diferentes.

.11.1.3 Prueba de diversidad beta con Unifrac entre los ambientes de latitudes bajas y altas

Las 11 regiones contrastadas para diversidad beta (tabla S3), son Latitudes bajas: Centro-Norte-Continente (CN-CON), Centro-Norte-Litoral (CN-LIT), Centro-Norte-Océano (CN-OCE), Centro-Norte-Plataforma (CN-PLA), Centro-Sur-Océano (CS-OCE), Centro-Sur-Plataforma (CS-PLA) y Latitudes altas: Polo-Norte-Continente (PN-CON), Polo-Norte-Océano (PN-OCE), Polo-Norte-Plataforma (PN-PLA), Polo-Sur-Océano (PS-OCE) y Polo-Sur-Plataforma (PS-PLA). Los valores significativos menores a 0.05 indica que la estructura genética entre un par de regiones es diferente, sin embargo, las regiones de Polo Norte y Polo Sur no presentan diferencias entre su estructura genética, de igual forma no hay diferencias en cuanto a estructura genética entre CN-PLA y las regiones de latitudes altas. Por último, Centro-Sur-Plataforma no presenta diferencias genéticas con ninguna otra región, recordando que dentro de esta región se encuentra *V. chagasii*, el cual es el OTUs de mayor distribución tanto en latitudes altas como bajas.

CN_CON	1										
CN_LIT	<0.0010	1									
CN_OCE	<0.0010	<0.0010	1								
CN_PLA	0.0010	<0.0010	0.0160	1							
CS_OCE	<0.0010	<0.0010	<0.0010	0.0030	1						
CS_PLA	0.7580	0.8740	0.9840	0.9690	0.9350	1					
PN_CON	0.1300	0.2720	0.2520	0.7870	0.3370	0.9920	1				
PN_OCE	<0.0010	0.0030	0.0030	0.4250	0.0070	0.9680	0.7820	1			
PN_PLA	0.0020	0.0170	0.0060	0.4700	0.0170	0.9680	0.7880	0.4670	1		
PS_OCE	<0.0010	0.0010	<0.0010	0.3060	0.0020	0.9390	0.6480	0.4450	0.7170	1	
PS_PLA	0.00100	0.0230	0.0070	0.5450	0.0160	0.9650	0.7990	0.4610	0.5890	0.4340	1

Tabla S3. Prueba de estructura genética con el programa Unifrac entre regiones, Continente (color verde) Centro-Norte-Continente (CN-CON). Latitudes bajas (color rojo y rosa): Centro-Norte-Litoral (CN-LIT), Centro-Norte-Océano (CN-OCE), Centro-Norte-Plataforma (CN-PLA), Centro-Sur-Océano (CS-OCE), Centro-Sur-Plataforma (CS-PLA) y latitudes altas (azul y cian): Polo-Norte-Continente (PN-CON), Polo-Norte-Océano (PN-OCE), Polo-Norte-Plataforma (PN-PLA), Polo-Sur-Océano (PS-OCE) y Polo-Sur-Plataforma (PS-PLA). La tabla muestra los resultados de la prueba Unifrac no Ponderada (presencia y ausencia de cada OTUs) realizada con el programa Mothur v.1.22.2, el programa usa un árbol filogenético y un archivo con los grupos ambientales a los que pertenece cada una de las secuencias, en color gris los ambientes con menor similitud genética.

.11.1.4 Prueba de diversidad beta con Unifrac entre los muestreos de Cuatro Ciénegas

La prueba Unifrac, apoya que la estructura genética entre varios de los muestreos de CCC es diferente, los distintos años de muestreo registran en su mayoría taxones diferentes y las especies compartidas entre los muestreos son divergentes a nivel nucleotídico o son muy pocas para acercar la similitud genética entre los muestreos.

Podemos observar que la estructura genética de los muestreos de 2013 (1POZAS_ROJASS y 1POZAS_ROJASW) es diferente a la mayoría de los muestreos (Tabla S4), además el muestreo del 2013 presenta mayor número de OTUs también. Los muestreos del año 2013 de sedimento y agua no presentan una estructura genética diferente apoyada por la prueba Unifrac. Por otra parte la diversidad de especies de los muestreos del año 2013 (1POZAS_ROJASS y 1POZAS_ROJASW) con respecto a 2017 (4POZAS_AZW) son diferentes, en las de 2013 se observa dominancia de *V. metshinkovi*, *V. anguillarum* y *V. proteolitycus* en cambio en el 2017 hay una dominancia de *Salinivibrio*. Los muestreos del año 2017 no presentan una estructura genética diferente entre ellos.

1POZAS_ROJASS	2013	1									
1POZAS_ROJASW	2013	0.028	1								
2CHURINCEW	2015	<0.0010	0.017	1							
3BECERRAS	2016	0.463	0.668	0.913	1						
3CHURINCEW	2016	<0.0010	<0.0010	0.865	0.885	1					
3POZAS_ROJASS	2016	0.001	0.052	0.57	0.954	0.204	1				
3POZAS_ROJASW	2016	0.103	0.231	0.598	0.983	0.485	0.647	1			
4CHURINCEW	2017	<0.0010	0.004	0.029	0.794	0.007	0.342	0.58	1		
4POZAS_AZW	2017	<0.0010	<0.0010	0.033	0.796	0.006	0.344	0.584	0.389	1	

Tabla S4. Prueba de estructura genética con el programa Unifrac entre pares de regiones: Sedimento de Pozas Rojas del año 2013 (1POZAS_ROJASS), muestra de agua de Pozas Rojas del año 2013 (1POZAS_ROJASW), muestra de agua de Churince del año 2015 (2CHURINCEW), muestra de sedimento de La Becerra del año 2016 (3BECERRAS), muestra de agua de Churince del año 2016 (3CHURINCEW), muestras de sedimento de Pozas Rojas del año 2016 (3POZAS_ROJASS), muestra de agua de Pozas Rojas3 2016 (POZAS_ROJASW), muestras de agua de Churince del año 2017 (4CHURINCEW) y muestras de agua de Pozas Azules 2017 (4POZAS_AZW). Los resultados de la prueba Unifrac no Ponderada (presencia y ausencia de cada OTUs) realizada con el programa Mothur v.1.22.2, este programa usa un árbol filogenético y un archivo con los grupos ambientales a los que pertenece cada una de las secuencias. Los valores significativos menores a 0.05 indica que la estructura genética entre ese par de regiones es diferente.

.11.1.5 Mapa de calor de diversidad beta entre los muestreos de 2013, 2015, 2016 y 2017 de Cuatro Ciénegas

Los muestreos del 2017 presentan menor disimilitud entre ellos y presentan mayor disimilitud con respecto a los muestreos de los años 2013, 2015 y 2016 (Figura S2). Pozas rojas del 2016 muestra menor disimilitud en sus muestreos de sedimento y agua, lo mismo sucede con los muestreos de Pozas Rojas en 2013.

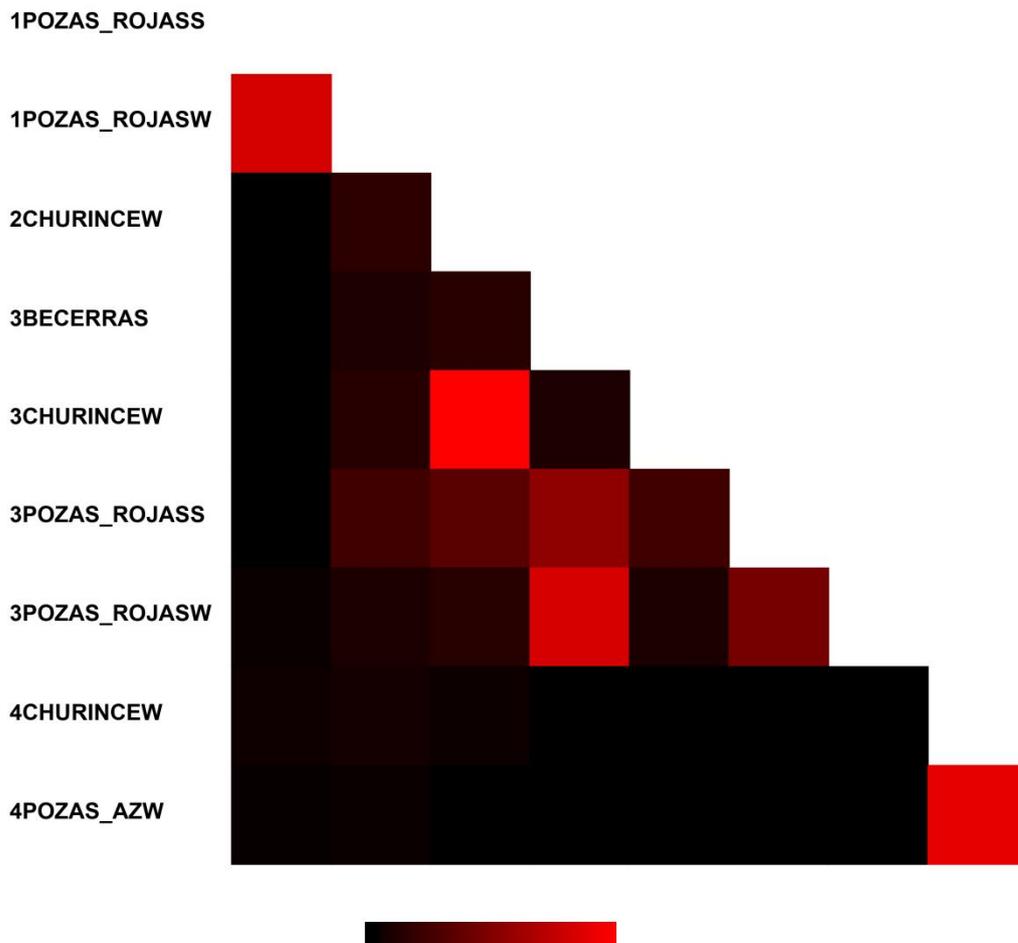


Figura S2. El mapa de calor (distancia de 0.01) de diversidad beta de los muestreos de CCC: Sedimento de Pozas Rojas del año 2013 (1POZAS_ROJASS), muestra de agua de Pozas Rojas del año 2013 (1POZAS_ROJASW), muestra de agua de Churince del año 2015 (2CHURINCEW), muestra de sedimento de La Becerra del año 2016 (3BECERRAS), muestra de agua de Churince del año 2016 (3CHURINCEW), muestras de sedimento de Pozas Rojas del año 2016 (3POZAS_ROJASS), muestra de agua de Pozas Rojas3 2016 (POZAS_ROJASW), muestras de agua de Churince del año 2017 (4CHURINCEW) y muestras de agua de Pozas Azules 2017 (4POZAS_AZW). La gráfica fue creada con el programa

Mothur v.1.22.2, cada cuadro es una comparación por pares entre dos muestras de disimilitud de composición, usando la métrica de Bray-Curtis, el color de cada cuadro se encuentra escalado entre negro y rojo según el grado de disimilitud, el color negro representa la mayor disimilitud, el rojo más claro la menor disimilitud entre ambientes.

.11.1.6 Mapa de calor de abundancias de cada región en los muestreos de Cuatro Ciénegas

Se observa que hay mayor diversidad de especies en el muestreo de Pozas Rojas del año 2013 (1POZAS_ROJASS). El muestreo de La Becerra del año 2016 y las muestras de agua de Churince del 2016, solo hay presencia de *V. cholerae* (Figura S3). Por último hay muchas especies no compartidas entre los muestreos de los distintos años.

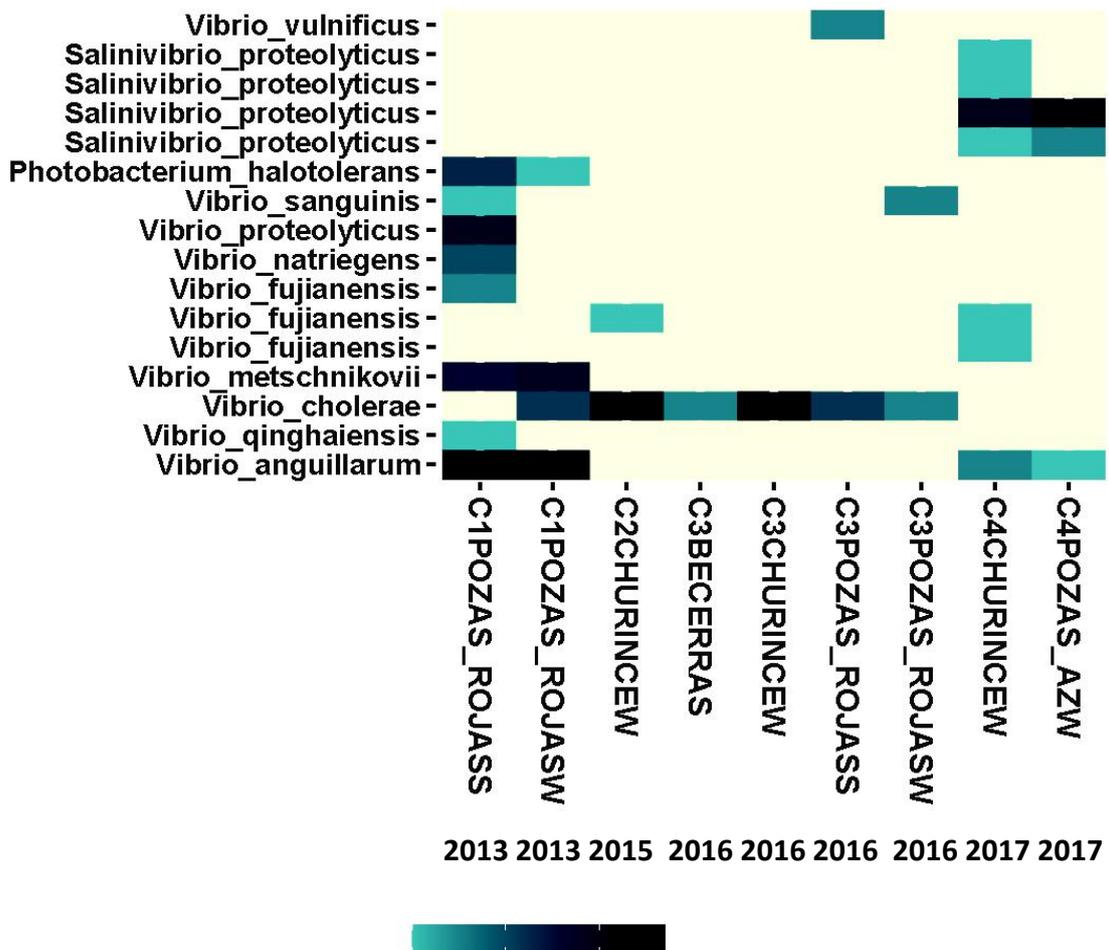


Figura S3. Gráfica de calor de diversidad beta entre los muestreos de 2013, 2015, 2016 y 2017 de Cuatro Ciénegas. Muestras de Sedimento de Pozas Rojas del año 2013 (C1POZAS_ROJASS), La Becerra del año 2016

(C3BECERRAS), Pozas Rojas del año 2016 (C3POZAS_ROJASS) y muestras de agua de Pozas Rojas del año 2013 (C1POZAS_ROJASW), Churince del año 2015 (C2CHURINCEW), Churince del año 2016 (C3CHURINCEW), Pozas Rojas3 2016 (C3POZAS_ROJASW), Churince del año 2017 (C4CHURINCEW) y muestras Pozas Azules 2017 (C4POZAS_AZW). Cada fila en el mapa de calor representa un especie diferente, La abundancia esta representada por un gradiente de color escalado entre cian (menor abundancia) y azul marino (mayor abundancia).