



Universidad del Mar Campus Puerto Ángel

Diversidad microbiana del sistema de manglar Estero Pargo,
Campeche, México

TESIS

Que para obtener el Título Profesional
de Licenciado en Biología Marina

Presenta

Leonardo Daniel Pérez González

Directora

Dra. Mirna Vázquez Rosas Landa

Co-directora

Ma. Nieves Trujillo Tapia

Puerto Ángel, Oaxaca, 2025

RESUMEN

El estudio de las comunidades microbianas brinda información sobre los procesos ecológicos, biológicos y biogeoquímicos que se llevan a cabo en los ecosistemas. Los estudios microbiológicos en manglares generalmente están dirigidos a grupos bacterianos específicos, por lo que gran parte de las comunidades en los suelos aún se desconoce. Las técnicas moleculares como la amplificación de ácidos nucleicos por PCR permiten abordar estudios de comunidades microbianas con una resolución capaz de detectar bacterias no cultivables. El objetivo de este estudio fue analizar y comparar la estructura y la diversidad de las comunidades microbianas en suelos de manglar y su relación con las variables ambientales de la temporalidad, profundidad y el gradiente de conservación de la zona de estudio, ubicada dentro del sistema lagunar Estero Pargo, Campeche. El análisis se realizó mediante la secuenciación del gen 16S rRNA en la plataforma de secuenciación masiva Illumina. Se colectaron núcleos de suelo en sitios de manglar clasificados como de manglar no degradado, moderadamente degradado y degradado, en dos estaciones climáticas (secas e inundaciones), y a diferente profundidad (05, 20 y 40 cm). Se obtuvieron 11,469 variables únicas de amplicones (ASVs) a través de las cuales se detectaron cambios en la diversidad microbiana relacionada al gradiente de conservación en el área de estudio y en relación con la profundidad de las capas del suelo. De acuerdo con los resultados, la familia *Vibrionaceae* dominó en sitios conservados. El sitio de degradación moderada reveló patrones estacionales en los cuales *Halomonas* y *Marinomonas* dominaron en temporada seca y *Exiguobacterium* dominó en temporada de inundaciones. Este estudio reveló que una familia de Firmicutes se distribuye en todas las profundidades analizadas, lo que destaca su importancia y potencial para la restauración del ecosistema. Los índices de diversidad mostraron comunidades con una alta riqueza de especies y mayor abundancia en la temporada de seca que en la de inundaciones. Este trabajo aporta conocimiento sobre la estructura y composición de comunidades bacterianas en el suelo de manglar y su relación con parámetros ambientales como temporalidad, profundidad y estado de conservación.

Palabras clave: Comunidades microbianas, suelos de manglar, gen 16S

ABSTRACT

The study of microbial communities provides information on the ecological, biological, and biogeochemical processes that occur in ecosystems. Microbiological studies in mangroves are generally directed at specific bacterial groups, so much of the communities in these soils remain unknown. Molecular techniques such as nucleic acid amplification by PCR allow for the study of microbial communities with a resolution capable of detecting non-cultivable bacteria. The objective of this study was to analyze and compare the structure and diversity of microbial communities in mangrove soils and their relationship with environmental variables of temporality, depth, and the conservation gradient of the study area, located within the Estero Pargo lagoon system, Campeche. The analysis was performed by sequencing the 16S rRNA gene on the Illumina mass sequencing platform. Soil cores were collected from mangrove sites classified as non-degraded, moderately degraded, and degraded mangrove, in two climatic seasons (dry and flood), and at different depths (05, 20, and 40 cm). A total of 11,469 unique amplicon sequence variants (ASVs) were obtained, through which changes in microbial diversity related to the conservation gradient in the study area and in relation to the depth of the soil layers were detected. According to the results, the family *Vibrionaceae* dominated in conserved sites. The moderately degraded site revealed seasonal patterns in which *Halomonas* and *Marinomonas* dominated in the dry season and *Exiguobacterium* dominated in the flood season. This study revealed that a family of Firmicutes is distributed at all analyzed depths, highlighting its importance and potential for ecosystem restoration. Diversity indices showed communities with high species richness and greater abundance in the dry season than in the flood season. This work contributes knowledge on the structure and composition of bacterial communities in mangrove soil and their relationship with environmental parameters such as temporality, depth, and conservation status.

Keywords: Microbial communities, mangrove soils, 16S rRNA gene, microbial diversity, environmental variables

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología campus Ciudad Universitaria por permitirme el uso de sus instalaciones como alumno tesista para el aprendizaje y realización de este escrito.

Al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología campus Ciudad del Carmen por la estancia y comodidades para realizar el recorrido en el Estero Pargo, Campeche.

Agradezco el apoyo, enseñanzas, tiempo, paciencia, dedicación y oportunidades brindadas durante todo este trayecto de mi directora Dra. Mirna Vázquez Rosas Landa.

A Ma. Nieves Trujillo Tapia por aceptar se mi co-directora y por su apoyo durante todos estos años.

Al Dr. Julio Cesar Canales Delgadillo por sus enseñanzas, apoyo y su gestión para poder realizar una estancia en el Instituto de Ciencias del Mar y Limnología campus Ciudad del Carmen.

A mi revisor Dr. Eustacio Ramírez Fuentes

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Rubén Pérez Arenas y María del Rosario González Nava por su apoyo incondicional, por estar conmigo, por nunca perder la fe en mí. Por su esfuerzo y dedicación para que no me faltara nada y por todo el amor brindado.

A MI FAMILIA

Por estar en las buenas y en las malas. Alegrarse, celebrar mis triunfos, estar en los momentos no tan buenos y apoyarme siempre en las decisiones que he tomado. Gracias.

Índice

ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. ANTECEDENTES.....	12
3. JUSTIFICACIÓN.....	13
4. HIPÓTESIS.....	13
5. OBJETIVOS.....	14
5.1 Objetivo general.....	14
5.2 Objetivos particulares.....	14
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
6.1 Área de estudio.....	14
6.2 Muestreo.....	16
6.3 Diseño Experimental.....	18
6.4 Extracción de ADN.....	18
6.5 Amplificación y Secuenciación.....	18
6.6 Procesamiento de datos y la asignación de taxonomía.....	19
6.7 Análisis de la comunidad.....	20
6.8 Análisis estadísticos.....	20
7. RESULTADOS.....	22
7.1 Dinámica de diversidad microbiana en diferentes niveles de degradación del ecosistema de manglares.....	22
7.2 Cambios en la estructura de la comunidad microbiana influenciados por los cambios estacionales y la profundidad del suelo.....	25
7.3 Cambios en Gammaproteobacteria y Firmicutes.....	27
8. DISCUSIÓN.....	31
8.1 Dinámica de diversidad microbiana en diferentes niveles de degradación del ecosistema de manglares.....	31
8.2 Cambios en la estructura de la comunidad microbiana influenciados por los cambios estacionales y la profundidad del suelo.....	32
8.3 Cambios en Gammaproteobacteria y Firmicutes.....	34
9. CONCLUSIONES.....	36
10. BIBLIOGRAFÍA.....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización geográfica del área de estudio con respecto a la mancha urbana de Ciudad del Carmen, Campeche. Indicando la condición de conservación con letras A=franja, B=cuenca y C=zona degradada	16
Figura 2. Representación gráfica del diseño experimental, el cual muestra tres sitios de mangle con distinto nivel de degradación y el núcleo de 50 cm donde se muestran los intervalos de donde fueron recolectadas las muestras de suelo. Además, se muestran una representación de la temporada de secas en la parte superior y en la parte inferior la temporada de inundación.....	18
Figura 3. Índices de diversidad alfa: diversidad observada (Observed), Índice de Shannon (Shannon) e Índice de Simpson (Simpson) por temporalidad, profundidad y sitio.	24
Figura 4. Distribución de muestras de acuerdo con las variables ambientales analizadas. A) Análisis de componentes principales (PC) con distribución de temporalidad y sitio. B) Análisis de coordenadas principales (MDS) de temporalidad y sitio utilizando la primera y segunda dimensión. C) Análisis de coordenadas principales de temporalidad y profundidad con la primera y tercera dimensión. D) Análisis de coordenadas principales por sitio y temporalidad utilizando la primera y tercera dimensión.	26
Figura 5. Análisis de diferencias de abundancias de los principales géneros entre sitios	28
Figura 6. Análisis de diferencias de abundancias de los principales géneros entre temporalidad.....	29
Figura 7. Análisis de diferencias de abundancias de los principales géneros entre profundidad.....	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Valores de riqueza observada y estimaciones de diversidad de acuerdo con el Índice de Simpson e Índice de Shannon por temporalidad, sitio y profundidad.....	23
Tabla II. Prueba PERMANOVA realizada con la distancia Bray-Curtis y la relación con las variables.....	26

1. INTRODUCCIÓN

La relevancia del presente escrito, es aportar al conocimiento científico acerca del comportamiento de las comunidades microbianas en el suelo dentro del ecosistema de manglar del sistema lagunar Estero Pargo ubicado en Ciudad del Carmen, Campeche, México. Este sistema lagunar ha sido impactado durante muchos años, por la actividad antropogénica, por lo que el objetivo general es analizar la relación que existe entre la estructura de las comunidades microbianas con las variables de temporalidad (inundación y secas), profundidad y grado de conservación del Estero.

Los ecosistemas de manglar se distribuyen en regiones tropicales y subtropicales en todo el mundo (Lee *et al.* 2014). Son elementos esenciales de los paisajes costeros y desempeñan funciones cruciales en los patrones climáticos globales, incluida la captura de carbono (Chatting *et al.* 2022, Song *et al.* 2023). Dentro de estos ecosistemas, los microorganismos juegan roles clave en el mantenimiento de la salud y el funcionamiento de los manglares.

En el ecosistema de manglar, los microorganismos participan en la adquisición y reciclaje de nutrientes, la resistencia a enfermedades y la tolerancia al estrés salino e hídrico para favorecer a los árboles de mangle (Woodroffe *et al.* 2016, Palit *et al.* 2022, Akram *et al.* 2023). Los árboles de mangle y la comunidad microbiana asociada a ellos interactúan para incrementar la probabilidad de supervivencia de cada uno (Akram *et al.* 2023). Además los manglares albergan microorganismos en su rizosfera y tejidos radiculares (Purahong *et al.* 2019), a cambio, estos microorganismos facilitan el ciclo de nutrientes, como la fijación de carbono, oxígeno, nitrógeno, azufre y fósforo (Holguin *et al.* 2001, Sjöling *et al.* 2005, Vovides *et al.* 2011), nutrientes esenciales que en su ausencia o déficit limita el crecimiento y la productividad de los manglares. Las comunidades microbianas también actúan como amortiguadores, mejorando la resistencia a factores estresantes ambientales como la salinidad, inundaciones y enfermedades (Lai *et al.* 2022). Por ejemplo, cultivar *Azospirillum*

en los esfuerzos de restauración aporta la fijación de nitrógeno, producción de fitohormonas para promover la colonización de otros microorganismos, facilitando la absorción de nutrientes como fósforo y potasio, además de promover la tolerancia al estrés en las raíces de los manglares (Domínguez-Núñez y Berrocal-Lobo, 2021). Además, una amplia variedad de géneros bacterianos, incluidos *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces* y *Xanthomonas*, han mostrado efectos protectores contra patógenos fúngicos y bacterianos en varios sistemas vegetales al colonizar sitios de infección, excluyendo competitivamente a los patógenos y secretando potentes compuestos antimicrobianos (Bonaterra *et al.* 2022). Es de esperarse que mecanismos similares pudieran operar dentro de los ecosistemas de manglar. Esto apoya la idea de que los árboles de manglar y la comunidad microbiana circundante forman una entidad resiliente (Allard *et al.* 2020), lo cual desafía la manera tradicional de observar a los organismos y enfatizar una interconexión entre los hospedadores y sus comunidades microbianas asociadas (Morris, 2018).

Reconocer el concepto de holobionte el cual se refiere a el conjunto formado por un organismo multicelular y sus microorganismos asociados (Valdespino *et al.* 2014); en los ecosistemas de manglar es esencial para los esfuerzos de conservación y gestión. Las estrategias de conservación deben priorizar la preservación de las especies de manglares y salvaguardar la diversidad y la integridad de las comunidades microbianas asociadas (Lai *et al.* 2022). Por ejemplo, se ha demostrado que diferentes especies de árboles, especialmente *Avicennia germinans*, tienen diferentes comunidades microbianas asociadas como *Clostridium* y *Vibrio* (Gomes *et al.* 2014), y también se han observado microorganismos específicos y microbiotas especializadas destacando el género *Tunicatimonas*, *Halomonas* y *Marinomonas* para cada especie de árbol (Wainwright *et al.* 2023). Se ha observado que el éxito de la restauración está relacionado con las comunidades microbianas presentes en las raíces de las plantas (Gomes *et al.* 2010). Integrar la dinámica hidrológica en los planes de restauración es vital, ya que la disponibilidad de agua, la deposición de

sedimentos y el ciclo de nutrientes influyen profundamente en la supervivencia y regeneración de los manglares (Ellison *et al.* 2020, Pérez-Ceballos *et al.* 2020, Akram *et al.* 2023). Por lo tanto, las iniciativas de restauración holísticas que consideran todo el holobionte e incorporan factores hidrológicos son esenciales para garantizar la resiliencia y sostenibilidad a largo plazo de los ecosistemas de manglar.

Las fluctuaciones de mareas en los ecosistemas de manglar dictan factores cruciales como disponibilidad de nutrientes, niveles de oxígeno, mecanismos de dispersión y salinidad. Estos elementos son esenciales para el bienestar y la distribución de las especies de manglares y su comunidad microbiana asociada. Las alteraciones inducidas por el ser humano en los patrones hidrológicos pueden perturbar estos ecosistemas, lo que conduce a una reducción del intercambio de mareas, salinidad elevada, sedimentación y desequilibrio de nutrientes (Kamali y Hashim, 2011, Pérez-Ceballos *et al.* 2020). Las inundaciones prolongadas aumentan los niveles de concentración de sulfuro, ya que la columna de agua dificulta la entrada de oxígeno al suelo, desfavoreciendo las condiciones fisicoquímicas necesarias para los árboles de manglar (Tobler *et al.* 2006).

Las dinámicas hidrológicas también moldean la distribución y composición de las comunidades microbianas en hábitats de manglar (Mai *et al.* 2021, Thomson *et al.* 2022). La inundación de mareas introduce diversas poblaciones microbianas de áreas vecinas, enriqueciendo la microbiota del suelo. Los cambios en los patrones hidrológicos pueden perturbar estas comunidades microbianas, afectando la disponibilidad de nutrientes, las tasas de descomposición y, en última instancia, la salud del manglar (Pérez-Ceballos *et al.* 2020, Akram *et al.* 2023). Por lo tanto, los esfuerzos de rehabilitación de manglares deben priorizar acciones como la restauración de la conectividad de las mareas y la gestión de la sedimentación para fomentar condiciones óptimas para el crecimiento del manglar y el establecimiento de comunidades microbianas saludables.

2. Antecedentes

En la actualidad, gracias al cambio en la percepción del rol que juegan los microorganismos en el desarrollo de los ecosistemas, cada vez son más los estudios encaminados a entender la diversidad microbiana y su funcionamiento (Azman *et al.* 2015, López *et al.* 2018).

En el continente Asiático, Basak *et al.* (2016) colectaron muestras dentro del manglar en Dhulibhashani, Sundarbans localizado al noreste de la costa de India, por su parte Nathan *et al.* (2020) llevaron a cabo la recolección al Oeste de India en la región de Puthuvypeen y Manglavanam, donde caracterizaron la diversidad microbiana en los suelos de manglar. Basak *et al.* (2016) realizaron la secuenciación del gen 16S RNA en diferentes temporadas, mientras que Nathan *et al.* (2020) realizaron la secuenciación mediante la amplificación de las regiones V3-V4 del gen 16S. Los análisis mostraron que la comunidad de mangle en Dhulibhashani se compone principalmente de los phylo Proteobacteria, Bacteroides, Firmicutes, Nitrospirae, Actinobacteria, Planctomycetes, mientras que en Puthuvypeen y Manglavanam se encuentra caracterizado principalmente por Proteobacterias seguidos de las clases Gammaproteobacteria y Alphaproteobacteria.

Por otra parte, en el continente americano Mendes & Tsai (2014) estudiaron las variaciones en la estructura bacteriana a diferentes profundidades en la región de Cananéia, São Paulo, Brasil, reportando que las características del suelo tal como profundidad, conductividad, pH y contenido de potasio presentan una relación en la estructura de la comunidad bacteriana. Por otro lado, Nogueira *et al.* (2015) describieron cuatro microbiomas de manglares semiáridos a partir de suelos, donde se relaciona la disminución de Gammaproteobacteria y un aumento de Betaproteobacteria con el aumento de la eutrofización. Además, documentaron la presencia de grupos extremófilos como Lentisphaerae, Thermotogae, Dictyoglomi, Aquificae y Elusimicrobia.

Por último, en Laguna de Términos, específicamente en el Estero Pargo, Lizárraga-Partida *et al.* (1987), cuantificaron las diferencias estacionales de

poblaciones de comunidades bacterianas y se caracterizaron las heterótrofas. Además, se determinó que la variación entre las estaciones determina la variación de microorganismos heterótrofos, pudiendo identificar un incremento de estos microorganismos pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Vibrio* los cuales están relacionados con el impacto antropogénico de la zona urbana de Ciudad del Carmen. Concluyendo que es necesario realizar más estudios del microbioma en Estero Pargo.

3. Justificación

El área de estudio se localiza aproximadamente a 1-2 km de los seis asentamientos urbanos más cercanos: Isla del Carmen, Atasta, Puerto Rico, Nuevo Progreso y Palizada. Estos asentamientos, con una población total de 205,487 habitantes, generan al menos dos descargas residuales sin tratamiento en la zona. Aunado a esto, las actividades de piscicultura (osti6n, camar6n blanco, jaiba, robalo y tilapia) est6n creciendo dentro del estuario sin control alguno, promoviendo la mortandad de 6rboles de mangle. El Estero Pargo al ser un manglar urbano el cual puede servir como una ubicaci6n modelo para el estudio de las comunidades bacterianas y el comportamiento de estas ante la degradaci6n del ecosistema de manglar

4. Hip6tesis

La estructura de las comunidades microbianas en los suelos de manglar de estero Pargo exhibir6 diferencias significativas en su diversidad, riqueza y composici6n taxon6mica, las cuales estar6n determinadas por una interacci6n compleja entre el grado de conservaci6n del sitio, la profundidad del suelo y la temporalidad

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

- Analizar la relación entre la estructura de las comunidades microbianas y las variables de temporalidad (lluvias y secas), profundidad y grado de conservación.

5.2 Objetivos particulares

- Caracterizar y comparar la estructura de las comunidades microbianas en tres sitios con diferente condición de conservación.
- Caracterizar y comparar la estructura de las comunidades microbianas a tres diferentes horizontes de profundidad durante la estación seca y de inundación.
- Identificar cambios en la estructura de la comunidad microbiana en los suelos del manglar en estero Pargo con relación a un gradiente de conservación y de forma estacional y espacial.

6. Material y Métodos

6.1 Área de estudio

La Laguna de Términos, designada como sitio Ramsar número 1356, de importancia biológica internacional, está experimentando varias presiones debido al crecimiento de la industria y la urbanización. El área de estudio abarca el bosque de manglares situado dentro del estuario conocido como Estero Pargo en el lado sureste de la Isla del Carmen en Campeche, México (18° 39' 05" N; --91° 45' 31" O y 18° 39' 03" N; --91° 45' 26" O, figura 1). El Estero Pargo está formado por un canal de mareas de agua dulce y salada con una longitud de aproximadamente 6 km y un ancho promedio de 14 m, presenta una masa forestal compuesta de mangle rojo (*Rhizophora mangle*), mangle blanco (*Laguncularia racemosa*) y mangle negro (*Avicennia germinans*), de aproximadamente 52 ha,

presenta un clima húmedo cálido además un patrón estacional de temperatura con máximos de 35.8 °C con mínimos de 18.6 °C, la época de secas va de febrero a mayo. La precipitación se inicia en el mes de junio sobrepasando los 100 mm/mes, manteniendo este rango hasta octubre-noviembre donde posteriormente se observa una ligera disminución en el patrón de lluvias de 80 mm/mes hasta febrero. La evaporación es de 1,500 mm/año, el régimen de mareas es de aproximadamente 0.33 m. (Coronado-Molina *et al.* 2012, Contreras *et al.* 2014, Vande Velde *et al.* 2019).

De acuerdo con la condición del vigor de los árboles, Estero Pargo puede dividirse en tres áreas que conforman un gradiente de conservación: la franja (aproximadamente 20-30 m de ancho) a lo largo del borde del canal de mareas, la especie dominante es el manglar rojo (*Rhizophora mangle*), con algunos individuos de mangle blanco (*Laguncularia racemosa*) también presentes; la cuenca (aproximadamente 300 m de ancho), situada detrás de la franja, la especie dominante cambia al manglar negro (*Avicennia germinans*); por último, existe un parche (aproximadamente 2.8 ha) de un área de manglar degradado donde la mayoría de los árboles han muerto, aunque persisten menos de 20 individuos pertenecientes a *A. germinans* (Figura 1).

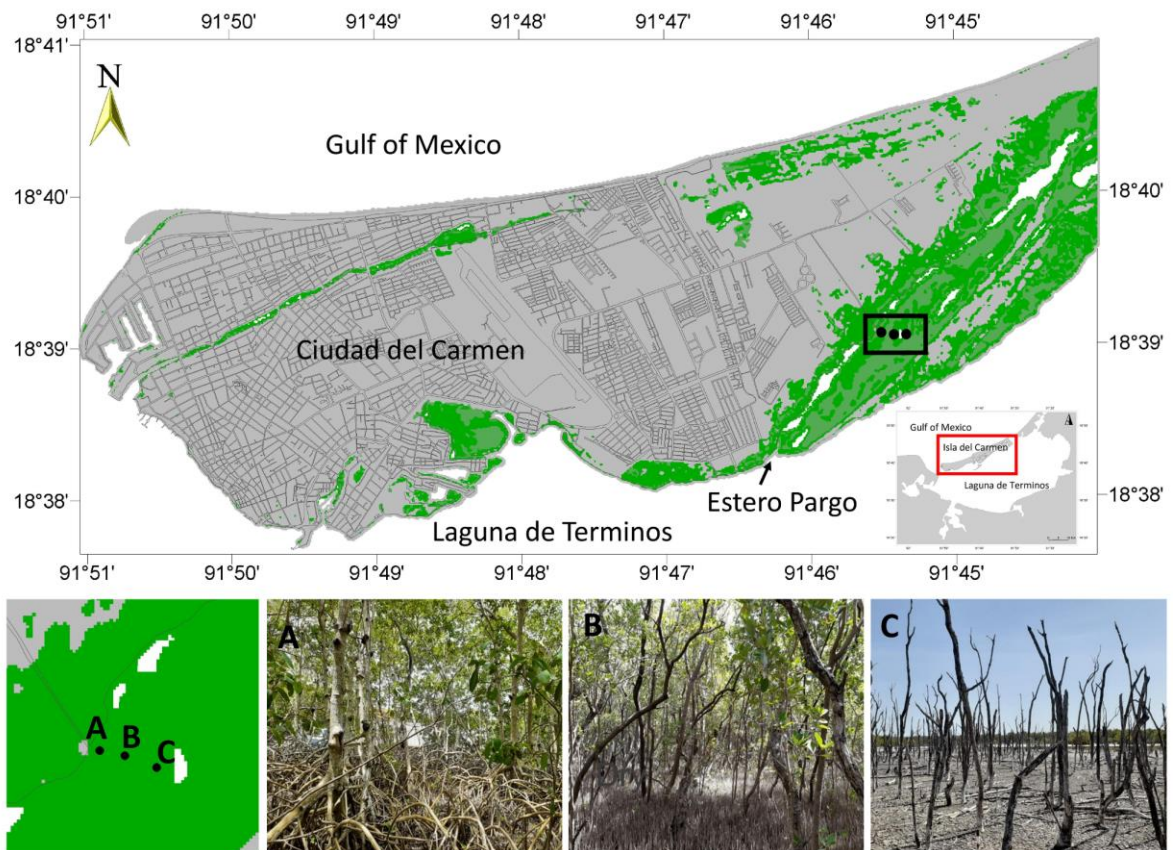


Figura 1. Localización geográfica del área de estudio con respecto a la mancha urbana de Ciudad del Carmen, Campeche. Indicando la condición de conservación con letras A=franja, B=cuenca y C=zona degradada

6.2 Muestreo

El presente estudio se realizó con datos de librería genética proporcionados por el Dr. Julio Cesar Canales Delgadillo perteneciente como profesor investigador del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología Estación El Carmen, localizado en Ciudad del Carmen, Campeche perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Con la finalidad de analizar la relación entre la estructura de las comunidades microbianas y las variables de temporalidad (lluvias y secas), profundidad y grado de conservación en el suelo de Estero Pargo, se realizaron muestreos en temporada de lluvias (Enero) y en temporada de secas (Mayo) en 2018 a lo largo de un gradiente de conservación, que va desde la zona de franja, la más conservada en la cual encontramos manglar rojo

(*Rhizophora mangle*) con algunos individuos de mangle blanco (*Laguncularia racemosa*), en adelante denominada no degradada (ND), seguida por el sitio moderadamente degradado (MD) dominado principalmente por manglar negro (*Avicennia germinans*) localizado en la zona de cuenca, hasta el área más dañada, referida como degradada (D) o el manglar deteriorado en la cual se encuentra conformado por mangle muerto aunque persisten algunos árboles de *A. germinans* (Fig. 1). El sitio ND no mostró evidencia de factores naturales o antrópicos que impactaran la estructura del bosque, con la mayoría de los árboles vivos y el bosque cubriendo completamente esta zona, sirviendo como sitio de referencia. En el sitio MD, aunque la mayoría de los árboles estaban vivos, se observaron varios árboles muertos. Por último, el sitio D presentó una alta mortalidad de árboles, con solo unos pocos árboles vivos restantes (Fig. 1).

Para la colecta de muestras en Estero Pargo se establecieron tres parcelas de muestreo, cada una de 100 m², paralelas al canal de mareas dentro de cada zona de muestreo (ND, MD y D). En el punto medio de cada parcela, se utilizó un nucleador de acero inoxidable para coleccionar núcleos de suelo con una longitud de 50 cm a partir de la superficie del suelo. Cada núcleo coleccionado se seccionó en intervalos de 0-10 cm, 10-30 cm y 30-50 cm (en adelante denominados niveles del perfil) para obtener muestras de la parte central de cada sección de los núcleos, correspondientes a los niveles de horizonte de 5 cm, 20 cm y 40 cm. Para tomar en cuenta las variaciones estacionales, se recolectaron tres réplicas de núcleos en cada sitio durante dos estaciones distintas: la temporada de lluvias (enero) y la temporada seca (mayo) de 2018. Todas las muestras se transportaron dentro de bolsas plásticas al laboratorio del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología campus El Carmen y se almacenaron a -20°C hasta su procesamiento.

6.3 Diseño Experimental

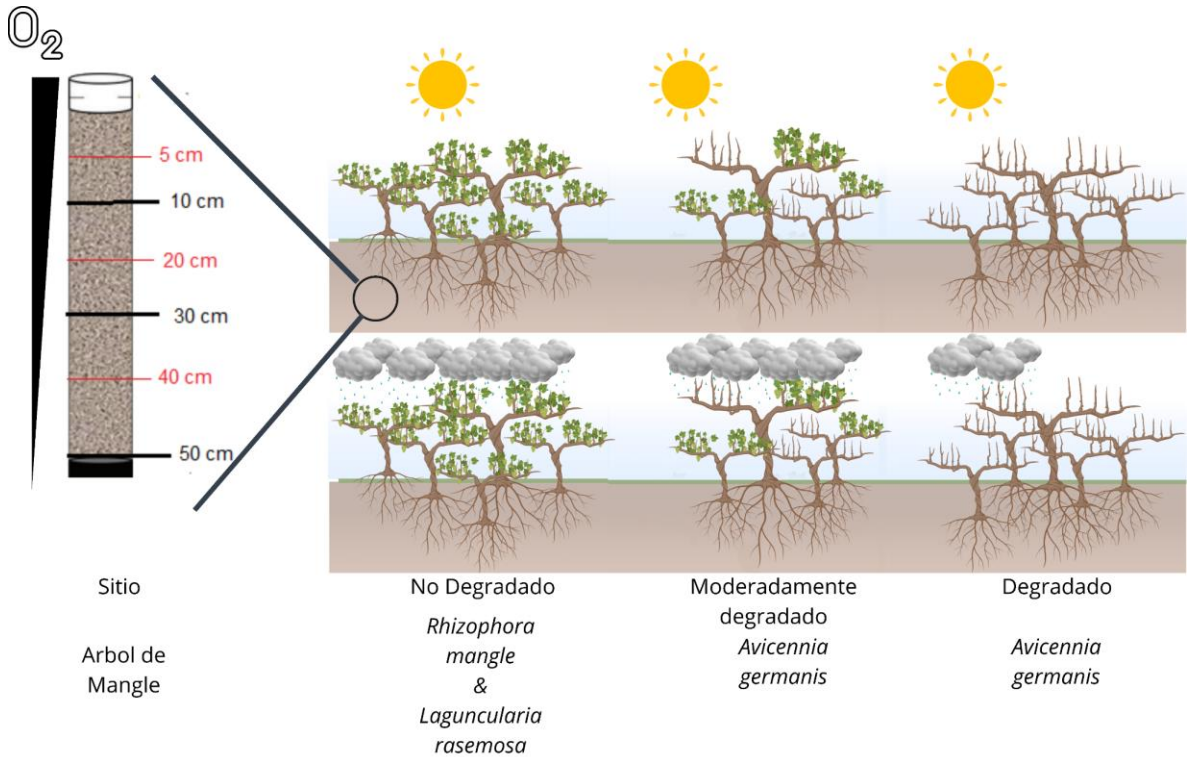


Figura 2. Representación gráfica del diseño experimental, el cual muestra tres sitios de mangle con distinto nivel de degradación y el núcleo de 50 cm donde se muestran los intervalos de donde fueron recolectadas las muestras de suelo. Además, se muestran una representación de la temporada de secas en la parte superior y en la parte inferior la temporada de inundación.

6.4 Extracción de ADN

Después de descongelar y homogeneizar completamente las muestras de suelo colectadas en Estero Pargo, se extrajo el ADN para análisis molecular utilizando 250 mg de suelo. Se purificaron 54 muestras de ADN de suelo siguiendo las instrucciones del fabricante utilizando el kit de ADN de suelo E.Z.N.A. (Omega Biotech, Inc., Georgia, EE. UU.). Para garantizar una representatividad adecuada de la comunidad bacteriana, se agruparon cinco réplicas de extracción de ADN por cada sección del núcleo (5, 20, 40 cm) en cada nivel de perfil para su análisis.

6.5 Amplificación y Secuenciación

Las bibliotecas genéticas se prepararon utilizando los cebadores 341F (CCTACGGGNGGCWGCAG) y 785R (GACTACHVGGGTATCTAATCC) para

amplificar fragmentos de las regiones V3-V4 del gen 16S codificante para identificación de especies de bacterias y arqueas (Mai *et al.* 2021). Las muestras de ADN se prepararon para la secuenciación dirigida con el kit Quick-16S™ NGS Library Prep (Zymo Research, Irvine, CA). La biblioteca de secuenciación se preparó utilizando máquinas de PCR en tiempo real mediante el servicio de ZymoBIOMICS® Targeted Sequencing Service for Microbiome Analysis (Zymo Research, Irvine, CA) de para controlar los ciclos y limitar la formación de quimeras de PCR. Todas las reacciones de PCR se configuraron en un volumen final de 20 uL y se trataron con el siguiente protocolo térmico: 10 min a 95°C para la desnaturalización, luego 20 ciclos de 95°C durante 30 s, 55°C durante 30 s y 72°C durante 3 min. Los productos finales de PCR se enfriaron a 4°C antes de cuantificarlos con lecturas de fluorescencia de qPCR y se agruparon según la igualdad de molaridad. La biblioteca final agrupada se limpió con el kit de limpieza y concentración de ADN Select-a-Size DNA Clean & Concentrator™ (Zymo Research, Irvine, CA), luego se cuantificó con TapeStation® (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) y Qubit® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, WA). Se utilizó el Estándar de Comunidad Microbiana ZymoBIOMICS® (Zymo Research, Irvine, CA) como control positivo para cada extracción de ADN. La biblioteca final obtenida de las 54 muestras recolectadas en Estero Pargo se secuenció en Illumina® MiSeq™ con un kit de reactivo v3 (600 ciclos) y se realizó con >10% de PhiX spike-in.

6.6 Procesamiento de datos y la asignación de taxonomía

El análisis de la calidad de la biblioteca secuenciada en Illumina® MiSeq™ se realizó utilizando FastQC (v.0.12.0) (Andrews, 2010). Posteriormente, se utilizó TrimGalore (v.0.6.10) (Krueger *et al.* 2023) para eliminar el adaptador universal de Illumina (AGATCGGAAGAGC) de las lecturas. Se utilizó R (v4.2.2) (R Core Team, 2021) y DADA2 (v.1.16) (Callahan *et al.* 2016) la cual genera variante de secuencia del amplicón (ASV) las cuales son más precisas para identificación microbiana, el cual para actuar bajo un filtro en las lecturas de ADN. Los parámetros a fin de recuperar el mayor número de lecturas de ADN son: las

lecturas se truncaron a 290 bases para el sentido de avance (forward) y 200 bases para el sentido hacia atrás (reverse). Esto significa que no se permiten lecturas más largas que estas. Los errores máximos esperados (maxEE) se refieren al límite de errores en una secuencia a nivel de base permitido por lectura, que se estableció en 5 errores por lectura. Las lecturas con un error esperado que excediera este valor fueron excluidas. Las bases ambiguas (N) no fueron permitidas. Para la asignación de taxonomía, empleamos la función `assignTaxonomy` del paquete DADA2 (v.1.16) (Callahan *et al.* 2016) con la base de datos GreenGenes2 (v.2022.10) (McDonald *et al.* 2023).

6.7 Análisis de la comunidad

Los parámetros de la comunidad microbiana se delinearon en función de datos ambientales, específicamente teniendo en cuenta las variables de zona (ND, MD, D) y temporada (secas y lluvias). La visualización de cada opción de parámetro se logró mediante análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS), utilizando la distancia de Bray-Curtis, permitiendo observar la similitud o disimilitud entre parámetros gráficamente. Se realizó un examen visual exhaustivo de los gráficos NMDS, y se excluyó la muestra `zr2502_16_R1`, que podría haber sesgado el análisis ya que tenía una sobrerrepresentación de secuencias ya que solo contaba con una sola secuenciación de ADN con mucha abundancia. Posteriormente, el conjunto de datos se filtró para incluir solo aquellas variantes de secuencia de amplicones (ASVs) presentes en al menos el 10% de las muestras y se repitió el NMDS, para validarlo mediante una prueba similitud (ANOSIM).

6.8 Análisis estadísticos

Para determinar los patrones de diversidad alfa a través de los índices de Simpson y Shannon, se utilizó la función `plot_richness` del paquete R `phyloseq` (McMurdie y Holmes, 2015) para determinar los patrones de diversidad alfa a través de los índices de Simpson y Shannon.

El índice de Simpson indica la dominancia que existe dentro de un sitio, teniendo en cuenta la riqueza de especies (especies presentes) así como la equitabilidad (distribución de los individuos entre especies). El índice varía de 0 a 1, donde valores cercanos a 1 significan mayor dominancia por lo tanto una baja diversidad (Salmerón *et al.*, 2017). La fórmula del índice de Simpson es:

$$D = 1 - \sum_{i=1}^s p_i^2$$

Donde:

D = Índice de Simpson

S= Número de especies en el hábitat

p_i = Proporción total de individuos pertenecientes a la especie i .

El índice de Shannon indica la diversidad de especies que existe dentro de un sitio, el índice comúnmente tiene una variación de 0.5 a 5. Con este índice, los valores mayores indican mayor diversidad de especies dentro del sitio o comunidad (Pla, 2006). La fórmula del índice de Shannon es:

$$H = - \sum_{i=1}^s p_i \cdot \ln(p_i)$$

Donde:

H= Índice de Shannon

S= Número total de especies en el hábitat

p_i =proporción total de individuos dentro del hábitat

Para realizar los análisis de componentes principales (PCA) y de coordenadas principales (PCoA), se utilizó microViz (v.0.12.1) (Barnett *et al.*, 2021), un paquete integral del software R, con el propósito de elucidar los patrones subyacentes de variación en nuestro conjunto de datos. Antes del análisis, los datos fueron sometidos a una transformación de razón logarítmica centrada (clr) para PCA, el cual permite una exploración efectiva de las diferencias

composicionales y mitiga el impacto de correlaciones espurias. Para PCoA, no se aplicó ninguna transformación a los datos, lo que permitió un examen directo de la disimilitud entre las muestras utilizando la distancia de Bray Curtis. Estos análisis proporcionaron conjuntamente información sobre la estructura y distribución de los datos, facilitando la interpretación de las dinámicas ecológicas.

Las bacterias diferencialmente abundantes fueron detectadas utilizando el paquete microbiomeMarker (v.1.8) (Cao, 2021), específicamente mediante el empleo de la función `run_aldex` con el método `glm_anova`, evaluando todos los rangos taxonómicos. Este análisis se llevó a cabo en todos los pares de datos, lo que resultó en una lista de taxones diferencialmente abundantes.

7. Resultados

7.1 Dinámica de diversidad microbiana en diferentes niveles de degradación del ecosistema de manglares.

El análisis de la comunidad microbiana dentro del ecosistema de manglar en el Estero Pargo se llevó a cabo utilizando 619,326 secuencias crudas obtenidas a partir del procesamiento de las lecturas en DADA2 (Callahan *et al.* 2016), a partir de las cuales se identificaron 11,469 ASVs. Se filtraron los taxones de baja abundancia (presentes en menos del 10% de las muestras), y se conservaron 648 ASVs con los cuales se estimaron los parámetros de abundancia y riqueza de especies en las estaciones seca e inundación y a diferentes profundidades (Tabla I).

Tabla I. Valores de riqueza observada y estimaciones de diversidad de acuerdo con el Índice de Simpson e Índice de Shannon por temporalidad, sitio y profundidad.

Riqueza Observada							
Secas				Lluvias			
Horizonte	ND	MD	D	Horizonte	ND	MD	D
5	144	70.33	15.3	5	36.5	32	18
20	72	56.3	32.6	20	52.3	32	24.3
40	96.3	103.6	36.6	40	28.5	55.6	43.3
Simpson							
Secas				Lluvias			
Horizonte	ND	MD	D	Horizonte	ND	MD	D
5	0.955	0.927	0.895	5	0.842	0.908	0.911
20	0.893	0.925	0.934	20	0.912	0.881	0.910
40	0.945	0.954	0.903	40	0.805	0.921	0.922
Shannon							
Secas				Lluvias			
Horizonte	ND	MD	D	Horizonte	ND	MD	D
5	3.936	3.212	2.424	5	2.243	2.738	2.606
20	3.199	3.154	2.967	20	2.985	2.721	2.641
40	3.659	3.814	2.726	40	2.256	3.155	2.917

En general, se observa que la temporada seca muestra consistentemente una mayor diversidad que la temporada de lluvia de acuerdo con los valores obtenidos de los índices de diversidad (Shannon y Simpson). Específicamente, en los horizontes superiores del suelo perteneciente a los 5 centímetros (Tabla I), la diversidad disminuyó durante la temporada seca en relación con el grado de degradación (52% y 89.38%) siendo el sitio conservado el que presenta mayor diversidad con 144 organismos observados y el degradado el que presenta menor diversidad con 15 organismos observados, mientras que se observó el patrón inverso durante la temporada lluviosa. A los 20 cm, los patrones de diversidad fueron muy similares entre las temporadas seca e inundaciones, con ambas mostrando una disminución en la diversidad según el grado de conservación, encontrando mayor diversidad en el sitio conservado y menor diversidad en el sitio degradado. Sin embargo, el índice de Simpson indicó un mayor grado de dominancia (0.03) durante la temporada seca. El patrón general cambió significativamente a los 40 cm en la zona D. Donde a los 40 cm, se observó que la temporada de lluvia exhibió una mayor diversidad de 6.7 organismos más que la temporada seca (Figura 3).

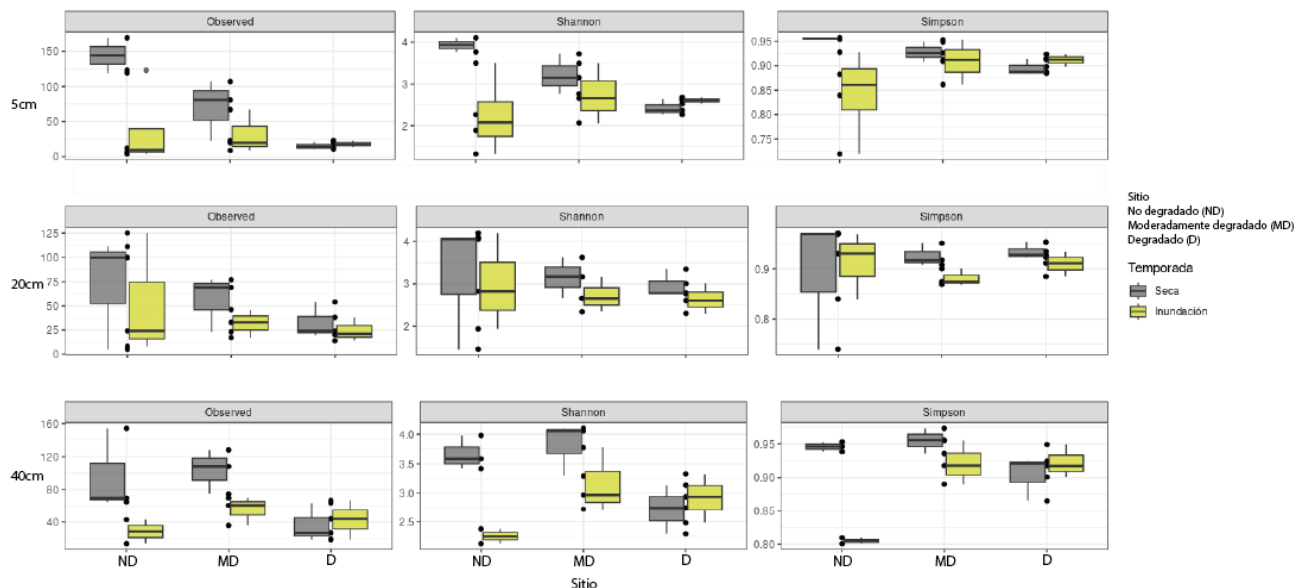


Figura 3. Índices de diversidad alfa: diversidad observada (Observed), Índice de Shannon (Shannon) e Índice de Simpson (Simpson) por temporalidad, profundidad y sitio.

7.2 Cambios en la estructura de la comunidad microbiana influenciados por los cambios estacionales y la profundidad del suelo.

Para explorar la dinámica de la comunidad microbiana en Estero Pargo, se utilizó la transformación clr y el PCA, lo cual delimitó las comunidades microbianas distintas entre sitios no degradados (ND) y moderadamente degradado (MD), especialmente notable durante la temporada seca en el sitio MD (Figura 4A). El PCoA en los datos sin transformar reveló además un agrupamiento distintivo asociado con el sitio ND F (Figura 4B), sugiriendo la existencia de grupos microbianos característicos. Además, el análisis de profundidad a través de la tercera dimensión de PCoA demostró una comunidad microbiana consistente en general a 40 cm de profundidad en todos los niveles de degradación y temporadas. A 5 cm y a 20 cm de profundidad no se observaron agrupaciones que pudiesen diferenciar una comunidad de otra (Figura 4C), en contraste con las capas superiores, donde el nivel de degradación, especialmente en la temporada seca, influye significativamente mostraron diversas agrupaciones en esta temporada, mientras que en temporada de inundación no muestran agrupaciones claras. (Figura 4D).

El análisis PERMANOVA utilizando la distancia Bray-Curtis para evaluar las diferencias en la composición de las comunidades microbianas en función de las variables (Temporalidad, Sitio y Profundidad; $p < 0.05$ para cada variable). Estas tres variables (Temporalidad, Sitio y Profundidad) explican una porción significativa de la estructura de la comunidad. La variable zona explicó el 7.26%, Profundidad 7.20% y Temporalidad 3.53%. El Residual (82.06) indica que la composición microbiana varía significativamente en función de la zona, temporalidad y profundidad dentro de Estero Pargo.

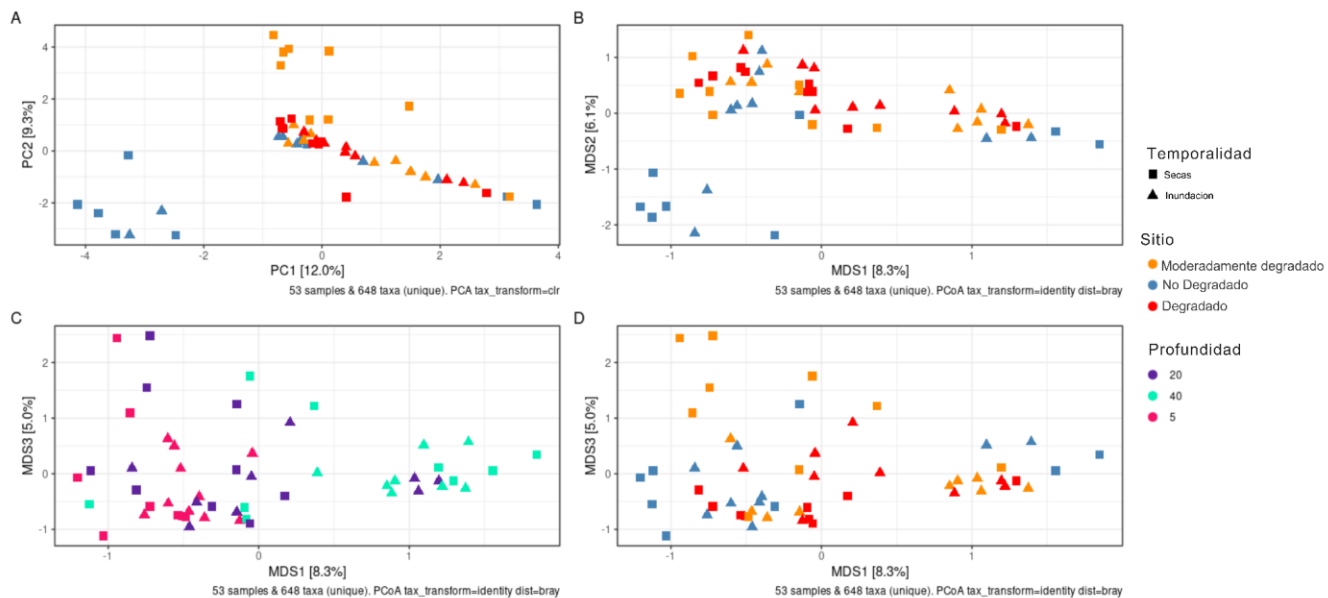


Figura 4. Distribución de muestras de acuerdo con las variables ambientales analizadas. A) Análisis de componentes principales (PC) con distribución de temporalidad y sitio. B) Análisis de coordenadas principales (MDS) de temporalidad y sitio utilizando la primera y segunda dimensión. C) Análisis de coordenadas principales de temporalidad y profundidad con la primera y tercera dimensión. D) Análisis de coordenadas principales por sitio y temporalidad utilizando la primera y tercera dimensión.

Tabla II. Prueba PERMANOVA realizada con la distancia Bray-Curtis y la relación con las variables.

Variable	F Model	R2	Df	Pr(>F)
Sitio	2.080	0.0726	2	0.0001
Temporalidad	2.022	0.0353	1	0.00020
Profundidad	2.061	0.0719	2	0.00010

7.3 Cambios en Gammaproteobacteria y Firmicutes

Se realizó un análisis de las diferencias de abundancia entre diversas variables ambientales (profundidad, sitio y nivel de degradación) utilizando el análisis de abundancia diferencial teniendo en cuenta la variación en la muestra (ALDEx2). Entre los sitios ND y MD, *Desulfobacter* y *Chloroflexota* surgieron como grupos característicos del sitio ND (Figura 6A). Al contrastar MD con el sitio D (Figura 6B), *Halomonadaceae* y *Rosellomorea* fueron familias específicas indicativas del sitio MD, mientras que; *Nitrospira* y *Thermodesulfovibriota* distinguieron al sitio D (Figura 6C).

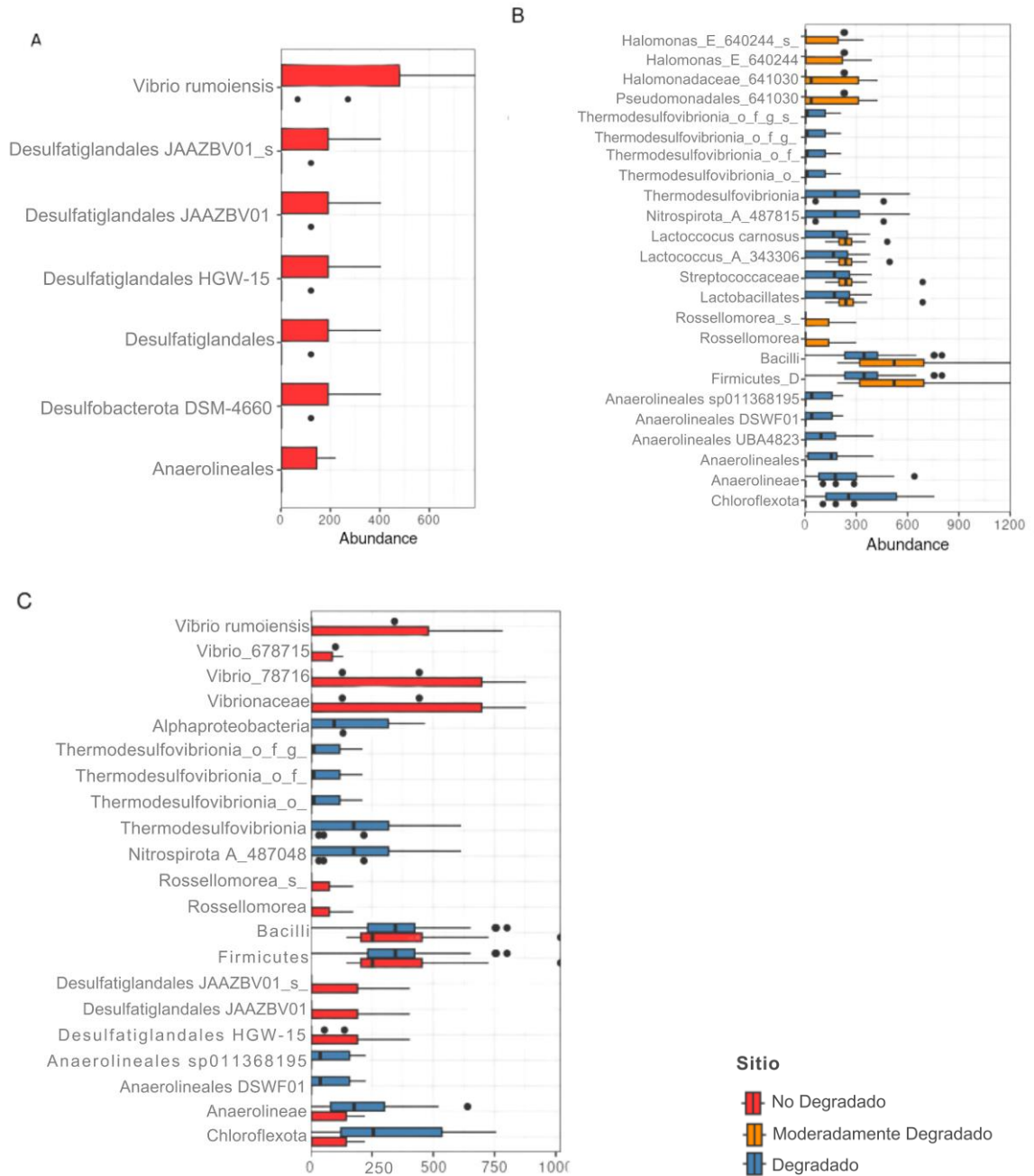


Figura 5. Análisis de diferencias de abundancias de los principales géneros entre sitios

En términos de dinámica estacional, se observó un claro patrón de mayor abundancia de linajes de *Marinomonadaceae* y *Halomonadaceae* correlacionados con la temporada seca en el sitio MD (Figura 7).

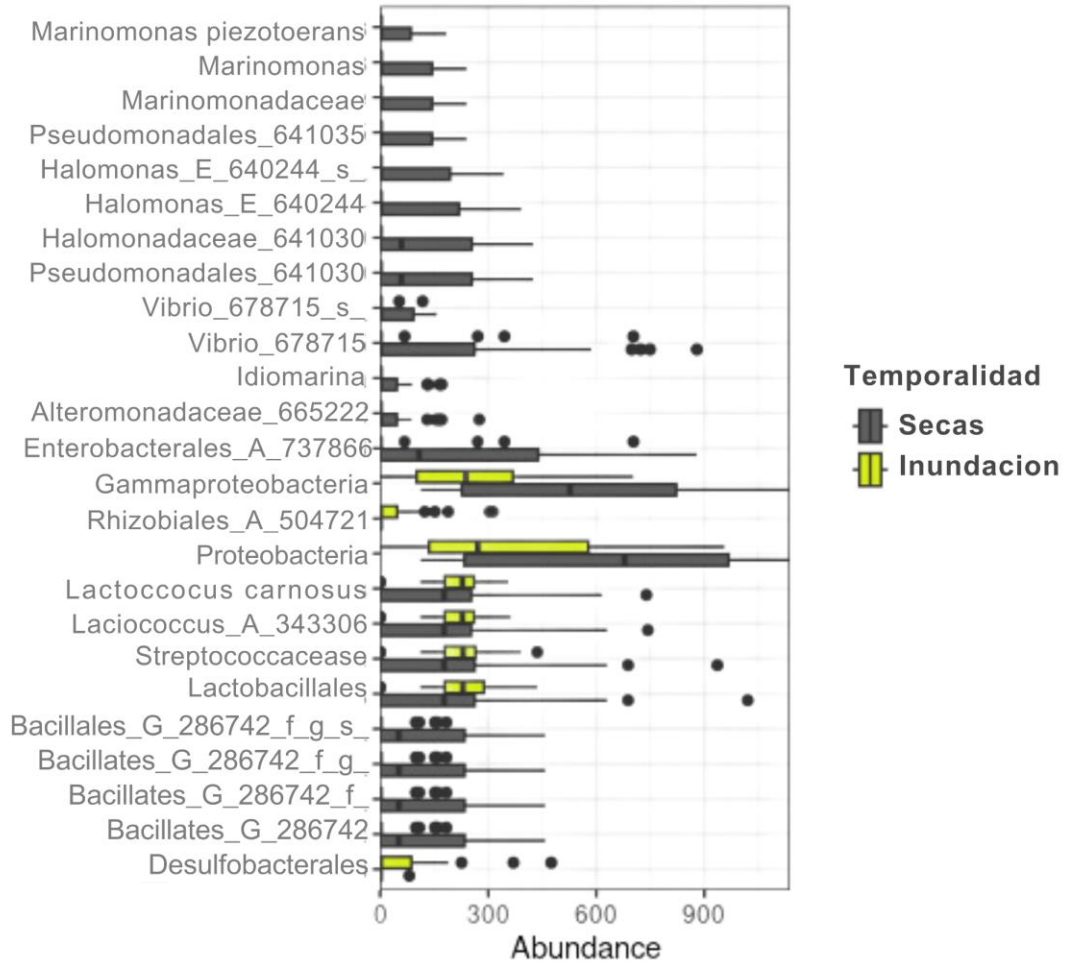


Figura 6. Análisis de diferencias de abundancias de los principales géneros entre temporalidad.

Durante la temporada de inundaciones, Rhizobiales y Desulfobacterales fueron predominantes. Respecto a las diferencias relacionadas con la profundidad, se observaron variaciones significativas entre la superficie (5 cm) y horizontes más profundos (20 cm y 40 cm). Firmicutes, Actinobacteria y Desulfobacter predominaron en la superficie (5 cm; Figura 8A, B). Notablemente, la presencia de *Halobacillaceae* a 5 cm sugiere una asociación potencial con la temporada seca. *Nitrospira* y *Thermodesulfovibriota* fueron prevalentes a 40 cm (Figura 8A, B).

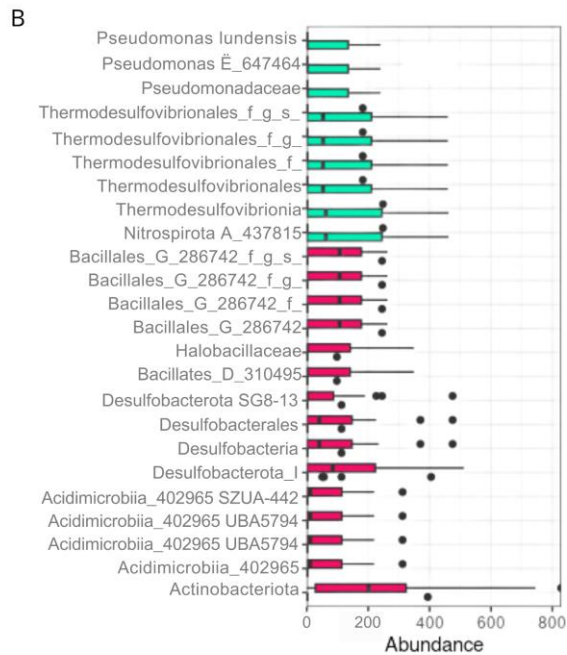
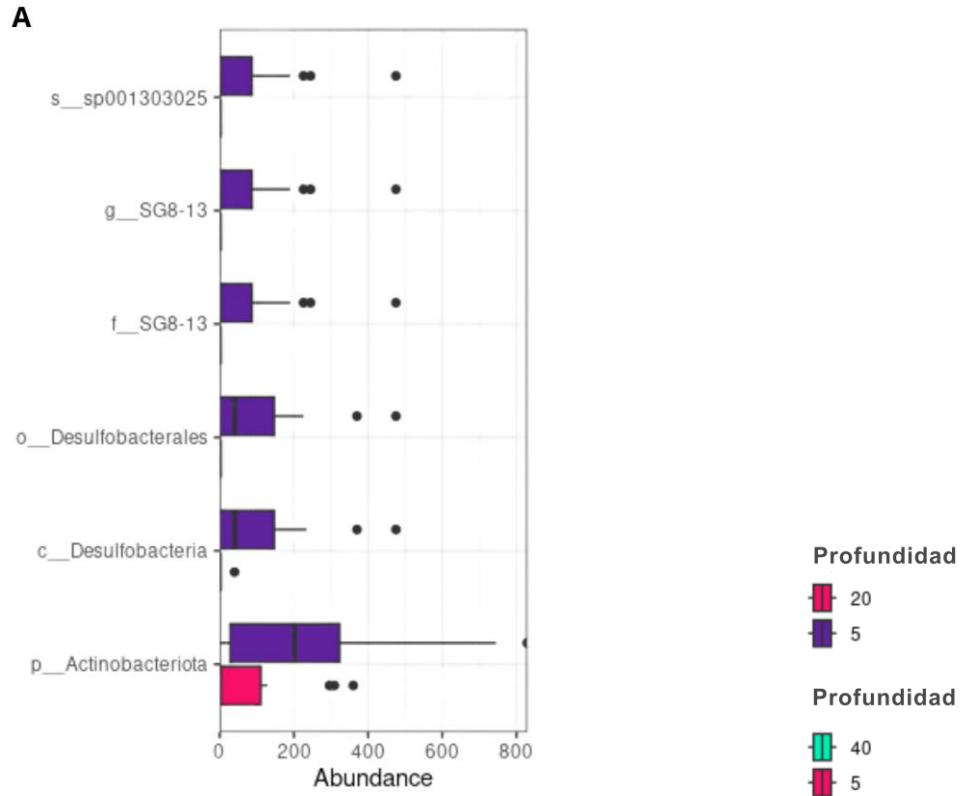


Figura 7. Análisis de diferencias de abundancias de los principales géneros entre profundidad.

8. Discusión

8.1 Dinámica de diversidad microbiana en diferentes niveles de degradación del ecosistema de manglares

Este estudio tuvo como objetivo explorar cómo responden las comunidades microbianas a distintos grados de degradación dentro de los ecosistemas de manglar, caracterizados por una conectividad hidrológica alterada y una creciente urbanización. Los resultados describen la naturaleza dinámica de las capas superficiales de suelo, ya que muestran una mayor susceptibilidad al cambio. Esto fue particularmente evidente en los sitios, ND (No Degradado) y MD (Moderadamente Degradado). En estos sitios con posiblemente una mayor alteración en su régimen hídrico, se observaron composiciones microbianas distintas: el sitio ND dominado por *Vibrionaceae* y el sitio MD por bacterias halófilas como *Marinomonas* y *Halomonas*, estas últimas mostraron patrones estacionales claros en temporada de secas, lo que sugiere una adaptación a condiciones de mayor estrés salinos producto de una menor inundación por mareas. A pesar de esta variabilidad influenciada por la conectividad hidrológica y las condiciones estacionales, ciertas bacterias como *Pseudomonadaceae* y *Thermodesulfovibronales* persisten en capas de suelo más profundas, desempeñando roles fundamentales potencialmente como colonizadores tempranos (de Santana *et al.* 2021, Hu *et al.* 2022).

Se observó una disminución en la diversidad microbiana correlacionada con el nivel de degradación. Sin embargo, las variaciones estacionales en los patrones de diversidad alfa fueron evidentes. Durante la temporada seca se abren más nichos ecológicos que durante la temporada de lluvias. Esto implica que durante períodos de bajos niveles de agua, están disponibles más nichos ecológicos en comparación con la inundación (Louca *et al.* 2018).

En los ecosistemas de manglar, los cambios en la dinámica del flujo de agua, especialmente entre condiciones aeróbicas y anaeróbicas, tienen un impacto significativo en la diversidad y composición de las comunidades

bacterianas (Luis *et al.* 2019). Durante la temporada de inundaciones en Estero Pargo se observó un aumento en la diversidad a 5 cm de profundidad, lo que sugiere una posible entrada de bacterias desde otras áreas, relacionada con la degradación debido a que la interconexión hidrológica en temporada de lluvias entre manglares está activa (Zhu *et al.* 2018). Sin embargo, a 40 cm de profundidad, la diversidad fue menor.

8.2 Cambios en la estructura de la comunidad microbiana influenciados por los cambios estacionales y la profundidad del suelo.

Como en otros manglares del mundo, en Estero Pargo las inundaciones intermitentes causadas por las mareas varían significativamente (Basak *et al.* 2016, Pérez-Ceballos *et al.* 2022). Se sabe que la disponibilidad de nutrientes determina la estructura de las comunidades bacterianas. Por ejemplo, la concentración de azufre y las condiciones anóxicas pueden aumentar la abundancia de *Deltaproteobacteria* las cuales reducen el sulfato a sulfuro de hidrogeno y *Epsilonproteobacteria* las cuales reducen el sulfuro de hidrogeno a azufre elemental (Lin *et al.* 2019). También es sabido que el porcentaje de materia orgánica, el pH y la saturación estacional del agua influyen en la composición y estructura de la comunidad bacteriana y en la abundancia de grupos funcionales específicos (Ansola *et al.* 2014, Arroyo *et al.* 2015, Ding *et al.* 2015). Por lo tanto, la variación estacional de la conectividad hidrológica, el flujo de agua o el estancamiento, principalmente en el sitio D, influyeron en la estructura y composición de la comunidad bacteriana, donde se observó un aumento en la abundancia de *Nitrospira*, una bacteria que participa en el ciclo del nitrógeno oxidando el nitrito a nitrato, que fue abundante en este sitio, sugiriendo que existe un aumento de amonio en este ambiente. (Daims y Wagner, 2018, Meng *et al.* 2022)

Por otro lado, estos resultados presentados son similares a los reportados para llanuras aluviales fluviales, donde la abundancia de bacterias anaeróbicas aumentó cuando el sistema permaneció inundado durante un período más prolongado (Argiroff *et al.* 2017), lo que podría explicar la abundancia observada

de *Firmicutes* y *Proteobacteria* en Estero Pargo. Las especies de *Vibrio* son habitantes naturales de ambientes acuáticos, incluidos suelos, estuarios y aguas costeras marinas. Pueden vivir tanto en aguas salinas con 30-35 ppt como en entornos con baja salinidad (Wong & Griffin, 2018). Se ha encontrado que las especies de *Vibrio* forman parte de la microbiota de *R. mangle* (Gomes *et al.*, 2014), lo que puede explicar su presencia en el sitio ND, que está dominado por esta especie de mangle. Las especies de *Vibrio* aisladas de marismas han mostrado la capacidad de fijar nitrógeno, lo que sugiere que la presencia de *Vibrio* en el sitio ND también podría estar desempeñando fijación de nitrógeno (Criminger *et al.* 2007). Otros *Vibrio* que producen prodigiosina pigmentos rojos directamente aislados de *R. mangle* como *V. rhizosphaerae* y *V. ruber* han demostrado ser capaces de inhibir bacterias y fitopatógenos fúngicos (Rameshkumar y Nair, 2009), por lo tanto, podrían ser organismos importantes para mantener saludable la cobertura forestal del manglar de franja. Por otro lado, el aumento reciente en la abundancia de *Vibrio* se ha relacionado con actividades humanas que pueden afectar negativamente los hábitats acuáticos o marinos (Narayanan *et al.* 2020). Por ejemplo, se cree que la acuicultura es una actividad que puede aumentar la abundancia de especies de *Vibrio* porque organismos como los rotíferos y *Artemia* sps., utilizados como alimento vivo, pueden ser huéspedes de varias especies de *Vibrio* (Sanches-Fernandes *et al.* 2022). Además, las altas densidades de peces cultivados pueden, a su vez, aumentar la abundancia de especies de *Vibrio* que pueden ser liberadas en ambientes naturales cuando se limpian los estanques y se descarga agua en cursos de agua (Sampaio *et al.* 2022). En este estudio, la creciente actividad de piscicultura podría contribuir a la abundancia registrada de *Vibrio* en Estero Pargo.

En el sitio MD, se observó un cambio notable en la diversidad microbiana. Durante la temporada seca, *Halomonas* y *Marinomonas* fueron notablemente abundantes, mientras que, durante la temporada de lluvias, *Exigobacterium* fue dominante. Aunque los tres grupos de bacterias son reconocidos como halófilos, las diferencias probablemente en la concentración de sal cambian y favorecen algunas líneas sobre otras (Chen *et al.* 2017, Edbeib *et al.* 2016). El suelo de los

manglares tienen gradientes de oxígeno (10-0 mg/L) , siendo las capas superiores con altas concentraciones de oxígeno (8-5 mg/L) y bajas concentraciones (0.03-0.06 mg/L) en las capas inferiores, pero también tienen altas concentraciones de otros elementos, como azufre, nitrógeno y metano, lo que sugiere múltiples nichos; por lo tanto, los cambios en la diversidad en el sitio MD podrían estar reflejando múltiples nichos. Inicialmente, se especula que el sitio MD podría ser similar a un entorno de manglar ND debido a la alta presencia de *Vibrionaceae* en el sitio. Sin embargo, dada la estrecha correlación entre los niveles de degradación y la disminución del flujo de agua, es plausible que el sitio MD refleje como las condiciones ambientales áridas seleccionan linajes de bacterias halotolerantes.

8.3 Cambios en Gammaproteobacteria y Firmicutes

Se ha demostrado que el género *Halomonas* puede producir y secretar ectoína, un compuesto el cual es utilizado por las plantas para disminuir el estrés osmótico (Wainwright *et al.* 2023). Por lo tanto, la comunidad vegetal de Estero Pargo podría estar beneficiándose de la presencia de este tipo de bacterias en el suelo, lo que pone de manifiesto la importancia de considerar la hipótesis del holobionte como algo existente y funcional en el área de estudio. Otros grupos bacterianos como *Marinomonas*, presente en el sitio MD, las cuales participan en el ciclo del sulfuro convirtiendo dimetilsulfoniopropionato (DMSP), un subproducto de la osmoregulación interna de plantas y algas, en dimetil sulfuro (DMS), un compuesto de importancia en el flujo biogénico a la atmósfera. Por lo tanto, la comunidad bacteriana de Estero Pargo y de otros manglares similares podrían estar contribuyendo de manera significativa al ciclo global del sulfuro (Wainwright *et al.* 2023).

Otro grupo identificado en el sitio MD, fue *Desulfatiglans* es descrito como un linaje abundante asociado a *Avicennia germanians*, sin embargo, este estudio no encontramos que sea una abundancia mayor a 500 organismos, lo mismo sucedió con los géneros *Ignavibacteriales*, *Phaeodactylibactes* y *SAR324*, que

han sido asociados a *A. germinians* (Gómez-Acata *et al.* 2023). Esto podría estar relacionado con: 1) muestrear en un ecosistema afectado por la actividad humana, lo que podría cambiar la estructura microbiana en comparación con otros estudios; 2) diferencias en la composición del suelo arenoso y calcáreo; y 3) la baja cobertura de secuencias de ADN ya que no se pudo trabajar con la totalidad de estas debido a la calidad de estas lecturas. Sin embargo, esto también muestra la singularidad de las comunidades microbianas asociadas con árboles específicos.

A pesar de la variabilidad en la diversidad de especies observada en los horizontes superiores del suelo a 5 y 20 cm, se observa que la diversidad a 40 cm no se observó un cambio significativo en la diversidad en todos los niveles de degradación. Este resultado sugiere que las condiciones ambientales de humedad, temperatura, oxígeno disponible permanecen estables a mayores profundidades durante más tiempo, lo que permite que la comunidad bacteriana permanezca inalterada durante períodos más prolongados. Por lo tanto, esta comunidad bacteriana más estable que las capas superiores podrían ser utilizadas en esfuerzos de restauración del sustrato en áreas degradadas del manglar. Llamativamente, se observó que *Lactococcus* con un metabolismo fermentativo dominaba a 40 cm, este linaje generalmente está limitado a hábitats relacionados con alimentos (Hwanhlem *et al.* 2013, Kleerebezem *et al.* 2020). Este grupo representa o sugiere que la fermentación es importante en este nivel de los horizontes del suelo ya que se generan sustancias antimicrobianas o bacteriostáticas como nisina y pediocina (Hwanhlem *et al.* 2014), lo que podría contribuir al control de patógenos y a la estabilización del sustrato en los esfuerzos de recuperación.

Este estudio reveló una mayor abundancia de bacterias halófilas en condiciones de sequía, lo que podría significar que podríamos utilizar algunas bacterias halófilas para proteger los árboles de mangle del estrés a causa de las actividades antropogénicas ya que es causante de la muerte progresiva de estos

organismos, como se ha demostrado anteriormente (Bharti et al. 2015, Dittmann et al. 2022).

9. Conclusiones

Este estudio en ecosistemas de manglar mostró la interacción entre la degradación del hábitat y la variación estacional, subrayando la importancia de comprender la ecología microbiana en los manglares y destacando la necesidad de conservar y gestionar estos valiosos ecosistemas costeros de manera sostenible.

- Se observó una mayor diversidad microbiana durante la temporada de seca en comparación con la temporada de lluvias, lo que implica que la gestión de los niveles de agua en los manglares es fundamental para mantener una alta biodiversidad microbiana en el suelo.
- Se destaca la importancia de los nichos ecológicos disponibles durante periodos de bajos niveles de agua, lo que sugiere que las estrategias de manejo costero deben considerar la protección y el mantenimiento de estos nichos que surgen durante la sequía, ya que albergan una diversidad única y potencialmente valiosa.
- Resalta la importancia de la rehabilitación de canales de marea para la conservación del hidropuerto, ya que se asegura un flujo adecuado de agua y nutrientes a través de estos canales el cual no solo beneficia a la vegetación, sino que también sustenta una diversidad microbiana crucial para la resiliencia del ecosistema
- La diversidad microbiana encontrada a mayor profundidad sugiere como posibilidad utilizarlas en esfuerzos de restauración. Además de que las bacterias halófilas y su potencial uso contra el estrés salino en plantas de manglar podrían ofrecer una estrategia de protección contra el estrés salino lo que abre una vía para el manejo costero, en regiones amenazadas por el aumento de salinidad, mediante el desarrollo de estrategias para fortalecer la resistencia de los manglares.

10. Bibliografía

Akram, H., Hussain, S., Mazumdar, P., Chua, K. O., Butt, T. E., y Harikrishna, J. A. 2023. Mangrove health: A review of functions, threats, and challenges associated with mangrove management practices. *Forests, Trees and Livelihoods*, 14(9), 1698.

Allard, S. M., Costa, M. T., Bulseco, A. N., Helfer, V., Wilkins, L. G. E., Hassenrück, C., Zengler, K., Zimmer, M., Erazo, N., Mazza Rodrigues, J. L., Duke, N., Melo, V. M. M., Vanwonderghem, I., Junca, H., Makonde, H. M., Jiménez, D. J., Tavares, T. C. L., Fusi, M., Daffonchio, D. y Bowman, J. 2020. Introducing the Mangrove Microbiome Initiative: Identifying Microbial Research Priorities and Approaches To Better Understand, Protect, and Rehabilitate Mangrove Ecosystems. *mSystems*, 5(5). <https://doi.org/10.1128/mSystems.00658-20>

Andrews, S. (2010). *FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data*. Babraham Bioinformatics. <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>

Ansola G., Arroyo P. y Sáenz de Miera L. E. 2014. Characterisation of the soil bacterial community structure and composition of natural and constructed wetlands. *The Science of the Total Environment*, 473-474, 63–71.

Argiroff W. A., Zak D. R., Lanser C. M., y Wiley M. J. 2017. Microbial Community Functional Potential and Composition Are Shaped by Hydrologic Connectivity in Riverine Floodplain Soils. *Microbial Ecology*, 73(3), 630–644.

Arroyo P., Sáenz de Miera L. E. y Ansola, G. 2015. Influence of environmental variables on the structure and composition of soil bacterial communities in natural and constructed wetlands. *The Science of the Total Environment*, 506-507, 380–390.

Azman A.-S., Othman I., Velu S. S., Chan K.-G., y Lee L.-H. 2015. Mangrove rare actinobacteria: taxonomy, natural compound, and discovery of bioactivity. *Frontiers in Microbiology*, 6, 856.

Barnett D., Arts I., y Penders J. 2021. microViz: an R package for microbiome data visualization and statistics. *Journal of Open Source Software*, 6(63), 3201.

Basak P., Pramanik A., Sengupta S., Nag S., Bhattacharyya A., Roy D., Pattanayak R., Ghosh A., Chattopadhyay D. y Bhattacharyya M. 2016. Bacterial diversity assessment of pristine mangrove microbial community from Dhulibhashani, Sundarbans using 16S rRNA gene tag sequencing. *Genomics Data*, 7, 76–78.

Bharti N., Barnawal D., Maji D., y Kalra A. 2015. Halotolerant PGPRs Prevent Major Shifts in Indigenous Microbial Community Structure Under Salinity Stress. *Microbial Ecology*, 70(1), 196–208.

Bonaterrea A., Badosa E., Daranas N., Francés J., Roselló G. y Montesinos, E. 2022. Bacteria as Biological Control Agents of Plant Diseases. *Microorganisms*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091759>

Callahan B. J., McMurdie P. J., Rosen M. J., Han A. W., Johnson A. J. A., y Holmes S. P. 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583.

Cao Y. 2021. *microbiomeMarker*. Bioconductor. <https://doi.org/10.18129/B9.BIOC.MICROBIOMEMARKER>

Chatting M., Al-Maslmani I., Walton M., Skov M. W., Kennedy H., Husrevoglu Y. S. y Le Vay, L. 2022. Future mangrove carbon storage under climate change and deforestation. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.781876>

Chen Y.-H., Lu C.-W., Shyu Y.-T. y Lin S.-S. 2017. Revealing the Saline Adaptation Strategies of the Halophilic Bacterium *Halomonas beimenensis* through High-throughput Omics and Transposon Mutagenesis Approaches. *Scientific Reports*, 7(1), 13037.

Contreras A., Douillet P. y Zavala-Hidalgo J. 2014. Tidal dynamics of the Terminos Lagoon, Mexico: observations and 3D numerical modelling. *Ocean Dynamics*, 64(9), 1349–1371.

Coronado-Molina C., Alvarez-Guillen H., Day J. W., Jr Reyes E., Perez B. C., Vera-Herrera F. y Twilley, R. 2012. Litterfall dynamics in carbonate and deltaic mangrove ecosystems in the Gulf of Mexico. *Wetlands Ecology and Management*, 20(2), 123–136.

Criminger J. D., Hazen T. H., Sobecky, P. A. y Lovell C. R. 2007. Nitrogen fixation by *Vibrio parahaemolyticus* and its implications for a new ecological niche. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(18), 5959–5961.

Daims H. y Wagner M. 2018. Nitrospira. *Trends in Microbiology*, 26(5), 462–463.

de Santana C. O., Spealman P., Melo V., Gresham D., de Jesus T., Oliveira E., y Chinalia F. A. 2021. Large-scale differences in diversity and functional adaptations of prokaryotic communities from conserved and anthropogenically impacted mangrove sediments in a tropical estuary. *PeerJ*, 9, e12229.

Ding X., Peng X.-J., Jin B.-S., Xiao M., Chen J.-K., Li B., Fang C.-M., y Nie M. 2015. Spatial distribution of bacterial communities driven by multiple environmental factors in a beach wetland of the largest freshwater lake in China. *Frontiers in Microbiology*, 6, 129.

Dittmann S., Mosley L., Stangoulis J., Nguyen V. L., Beaumont K., Dang T., Guan H., Gutierrez-Jurado K., Lam-Gordillo O. y McGrath A. 2022. Effects of extreme salinity stress on a temperate mangrove ecosystem. *Frontiers in Forests and Global Change*, 5. <https://doi.org/10.3389/ffgc.2022.859283>

Domínguez-Núñez J. A. y Berrocal-Lobo M. 2021. Application of microorganisms in forest plants. In *Biofertilizers* (pp. 265–287). Elsevier.

Edbeib M. F., Wahab, R. A. y Huyop F. 2016. Halophiles: biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 32(8), 135.

Ellison A. M., Felson A. J. y Friess D. A. 2020. Mangrove rehabilitation and restoration as experimental adaptive management. *Frontiers in Marine Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00327>

Gomes N. C. M., Cleary D. F. R., Pinto F. N., Egas C., Almeida A., Cunha A., Mendonça-Hagler L. C. S. y Smalla K. 2010. Taking root: enduring effect of rhizosphere bacterial colonization in mangroves. *PloS One*, 5(11), e14065.

Gomes N. C. M., Cleary D. F. R., Pires A. C. C., Almeida A., Cunha A., Mendonça-Hagler L. C. S. y Smalla K. 2014. Assessing variation in bacterial composition between the rhizospheres of two mangrove tree species. *Estuarine*,

Coastal and Shelf Science, 139, 40–45.

Gómez-Acata E. S., Teutli C., Falcón L. I., García-Maldonado J. Q., Prieto-Davó A., Yanez-Montalvo A., Cadena S., Chiappa-Carrara X. y Herrera-Silveira J. A. 2023. Sediment microbial community structure associated to different ecological types of mangroves in Celestún, a coastal lagoon in the Yucatan Peninsula, Mexico. *PeerJ*, 11, e14587.

Holguin G., Vazquez P. y Bashan Y. 2001. The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. *Biology and Fertility of Soils*, 33(4), 265–278.

Hu B., Liao J., Zhang Q., Ding S., He M., Qiao Y., Zhang Z., Shang C. y Chen S. 2022. Diversity and Vertical Distribution of Sedimentary Bacterial Communities and Its Association with Metal Bioavailability in Three Distinct Mangrove Reserves of South China. *WATER*, 14(6), 971.

Hwanhlem N., Biscola V., El-Ghaish S., Jaffrès E., Dousset X., Haertlé T., H-Kittikun A. y Chobert J.-M. 2013. Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria Isolated from Mangrove Forests in Southern Thailand as Potential Bio-Control Agents: Purification and Characterization of Bacteriocin Produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* KT2W2L. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 5(4), 264–278.

Hwanhlem N., Chobert J.-M. y H-Kittikun A. 2014. Bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from mangrove forests in southern Thailand as potential bio-control agents in food: Isolation, screening and optimization. *Food Control*, 41, 202–211.

Kamali B. y Hashim R. 2011. Mangrove restoration without planting. *Ecological Engineering*, 37(2), 387–391.

Kleerebezem M., Bachmann H., van Pelt-KleinJan E., Douwenga S., Smid E. J., Teusink B. y van Mastrigt O. 2020. Lifestyle, metabolism and environmental adaptation in *Lactococcus lactis*. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(6), 804–820.

Krueger F., James F., Ewels P., Afyounian E., Weinstein M., Schuster-Boeckler B. y Hulselmans G. 2023. *FelixKrueger/TrimGalore: v0.6.10 - add default decompression path*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7598955>

Lai J., Cheah W., Palaniveloo K., Suwa R. y Sharma S. 2022. A systematic review of the physicochemical and microbial diversity of well-preserved, restored, and disturbed mangrove forests: What is known and what is the way forward? *Forests, Trees and Livelihoods*, 13(12), 2160.

Lee S. Y., Primavera J. H., Dahdouh-Guebas F., McKee K., Bosire J. O., Cannicci S., Diele K., Fromard F., Koedam N., Marchand C., Mendelssohn I., Mukherjee N., y Record S. 2014. Ecological role and services of tropical mangrove ecosystems: a reassessment. *Global Ecology and Biogeography: A Journal of Macroecology*, 23(7), 726–743.

Lin X., Hetharua B., Lin L., Xu H., Zheng T., He Z. y Tian Y. 2019. Mangrove Sediment Microbiome: Adaptive Microbial Assemblages and Their Routed Biogeochemical Processes in Yunxiao Mangrove National Nature Reserve, China. *Microbial Ecology*, 78(1), 57–69.

Lizárraga-Partida M. L., Carballo Cruz R., Izquierdo-Vicuna F. B., Colwell R. R. y Chang I. W. 1987. Bacteriología de la Laguna de Terminos, Campeche, Mexico. *Anales Del Instituto de Ciencias Del Mar Y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México*, 14, 97–108.

López K. R., Reyes A. O., Giraldo L. E. U. y Tabarez, M. R. 2018. Diversidad e interacciones biológicas en el ecosistema de manglar. *Revista de Ciencias*, 22(2). <https://doi.org/10.25100/rc.v22i2.7925>

Louca S., Polz M. F., Mazel F., Albright M. B. N., Huber J. A., O'Connor M. I., Ackermann M., Hahn A. S., Srivastava D. S., Crowe S. A., Doebeli M., y Parfrey L. W. 2018. Function and functional redundancy in microbial systems. *Nature Ecology & Evolution*, 2(6), 936–943.

Luis P., Saint-Genis G., Vallon L., Bourgeois C., Bruto M., Marchand C., Record E., y Hugon M. 2019. Contrasted ecological niches shape fungal and prokaryotic community structure in mangroves sediments. *Environmental Microbiology*, 21(4), 1407–1424.

Mai Z., Ye M., Wang Y., Foong S. Y., Wang L., Sun F. y Cheng H. 2021. Characteristics of Microbial Community and Function With the Succession of Mangroves. *Frontiers in Microbiology*, 12, 764974.

McDonald D., Jiang Y., Balaban M., Cantrell K., Zhu Q., Gonzalez A., Morton J. T., Nicolaou G., Parks D. H., Karst S. M., Albertsen M., Hugenholtz P., DeSantis T., Song S. J., Bartko A., Havulinna A. S., Jousilahti P., Cheng S., Inouye M. y Knight R. 2023. Greengenes2 unifies microbial data in a single reference tree. *Nature Biotechnology*, 1–4.

McMurdie P. J. y Holmes S. 2015. Shiny-phyloseq: Web application for interactive microbiome analysis with provenance tracking. *Bioinformatics* , 31(2), 282–283.

Mendes L. W., y Tsai S. M. 2014. Variations of Bacterial Community Structure and Composition in Mangrove Sediment at Different Depths in Southeastern Brazil. *Diversity*, 6(4), 827–843.

Meng S., Peng T., Wang H., Huang T., Gu J.-D. y Hu Z. 2022. Evaluation of PCR primers for detecting the distribution of nitrifiers in mangrove sediments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(17), 5811–5822.

Morris J. J. 2018. What is the hologenome concept of evolution? *F1000Research*, 7. <https://doi.org/10.12688/f1000research.14385.1>

Narayanan S. V., Joseph T. C., Peeralil S., Koombankallil R., Vaiyapuri M., Mothadaka M. P. y Lalitha K. V. 2020. Tropical shrimp aquaculture farms harbour pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* with high genetic diversity and Carbapenam resistance. *Marine Pollution Bulletin*, 160(111551), 111551.

Nathan V. K., Vijayan J. y Ammini P. 2020. Comparison of bacterial diversity from two mangrove ecosystems from India through metagenomic sequencing. *Regional Studies in Marine Science*, 35, 101184.

Nogueira V. L. R., Rocha L. L., Colares G. B., Angelim A. L., Normand L. R. O., Cantão M. E., Agnez-Lima L. F., Andreote F. D. y Melo V. M. M. 2015. Microbiomes and potential metabolic pathways of pristine and anthropized Brazilian mangroves. *Regional Studies in Marine Science*, 2, 56–64.

Palit K., Rath S., Chatterjee S. y Das S. 2022. Microbial diversity and ecological interactions of microorganisms in the mangrove ecosystem: Threats, vulnerability, and adaptations. *Environmental Science and Pollution Research International*, 29(22), 32467–32512.

Pérez-Ceballos R., Zaldívar-Jiménez A., Canales-Delgadillo J., López-Adame H., López-Portillo J. y Merino-Ibarra M. 2020. Determining hydrological flow paths to enhance restoration in impaired mangrove wetlands. *PLoS One*, 15(1), e0227665.

Pérez-Ceballos R., Zaldívar-Jiménez A., Melgarejo-Salas S., Canales-Delgadillo J., López-Portillo J., Merino-Ibarra M., Celis-Hernandez O., Lara-Domínguez A. L. y Ochoa-Gómez J. 2022. Porewater Sulfide: The Most Critical Regulator in the Degradation of Mangroves Dominated by Tides. *Forests, Trees and Livelihoods*, 13(8), 1307.

Pla L. 2006. Biodiversidad: Inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. *Interciencia*, 31(8), 583–590.

Purahong W., Sadubsarn D., Tanunchai B., Wahdan S. F. M., Sansupa C., Noll M., Wu Y.-T. y Buscot, F. 2019. First Insights into the Microbiome of a Mangrove Tree Reveal Significant Differences in Taxonomic and Functional Composition among Plant and Soil Compartments. *Microorganisms*, 7(12). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120585>

Rameshkumar N. y Nair S. 2009. Isolation and molecular characterization of genetically diverse antagonistic, diazotrophic red-pigmented vibrios from different mangrove rhizospheres. *FEMS Microbiology Ecology*, 67(3), 455–467.

R Core Team. 2021. *R: A language and environment for statistical computing*. <https://www.R-project.org/>

Salmerón L. A., Geada L. G. y Fagilde E. M. del C. 2017. Propuesta de un índice de diversidad funcional: Aplicación a un bosque semideciduo micrófilo de Cuba Oriental. *Bosque (Valdivia)*, 38(3), 457–466.

Sampaio A., Silva V., Poeta P. y Aonofriesei F. 2022. *Vibrio* spp.: Life strategies, ecology, and risks in a changing environment. *Diversity*, 14(2), 97.

Sanches-Fernandes G. M. M., Sá-Correia I. y Costa R. 2022. Vibriosis Outbreaks in Aquaculture: Addressing Environmental and Public Health Concerns and Preventive Therapies Using Gilthead Seabream Farming as a Model System. *Frontiers in Microbiology*, 13, 904815.

Sjöling S., Mohammed S. M., Lyimo T. J. y Kyaruzi J. J. 2005. Benthic bacterial diversity and nutrient processes in mangroves: impact of deforestation. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 63(3), 397–406.

Song S., Ding Y., Li W., Meng Y., Zhou J., Gou R., Zhang C., Ye S., Saintilan N., Krauss K. W., Crooks S., Lv S. y Lin G. 2023. Mangrove reforestation provides greater blue carbon benefit than afforestation for mitigating global climate change. *Nature Communications*, 14(1), 756.

Thomson T., Fusi M., Bennett-Smith M. F., Prinz N., Aylagas E., Carvalho S., Lovelock C. E., Jones B. H. y Ellis J. I. 2022. Contrasting Effects of Local Environmental and Biogeographic Factors on the Composition and Structure of Bacterial Communities in Arid Monospecific Mangrove Soils. *Microbiology Spectrum*, 10(1), e0090321.

Tobler M., Schlupp I., Heubel K. U., Riesch R., de León F. J. G., Giere O. y Plath M. 2006. Life on the edge: hydrogen sulfide and the fish communities of a Mexican cave and surrounding waters. *Extremophiles: Life under Extreme Conditions*, 10(6), 577–585.

Valdespino P. M., Ibarra M. M., Valdespino V. M. y Falcón L. I. 2014. ¿Es una planta, un animal o un... holobionte?. *Ciencia y desarrollo*. 4; 6-11

Vande K. V., Hugé J., Friess D. A., Koedam N. y Dahdouh-Guebas F. 2019. Stakeholder discourses on urban mangrove conservation and management. *Ocean & Coastal Management*, 178, 104810.

Vovides A. G., Bashan Y., López-Portillo J. A. y Guevara R. 2011. Nitrogen Fixation in Preserved, Reforested, Naturally Regenerated and Impaired Mangroves as an Indicator of Functional Restoration in Mangroves in an Arid Region of Mexico. *Restoration Ecology*, 19(201), 236–244.

Wainwright B. J., Millar T., Bowen L., Semon L., Hickman K. J. E., Lee J. N., Yeo Z. Y. y Zahn G. 2023. The core mangrove microbiome reveals shared taxa potentially involved in nutrient cycling and promoting host survival. *Environmental Microbiome*, 18(1), 47.

Wong K. K. y Griffin P. M. 2018. Other Vibrio Species. In *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases* (pp. 879–881.e1). Elsevier.

Woodroffe C. D., Rogers K., McKee K. L., Lovelock C. E., Mendelssohn I. A., y Saintilan N. 2016. Mangrove Sedimentation and Response to Relative Sea-Level Rise. *Annual Review of Marine Science*, 8, 243–266.

Zhu P., Wang Y., Shi T., Zhang X., Huang G. y Gong J. 2018. Intertidal zonation affects diversity and functional potentials of bacteria in surface sediments: A case study of the Golden Bay mangrove, China. *Applied Soil Ecology: A Section of Agriculture, Ecosystems & Environment*, 130, 159–168.