



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

ANÁLISIS DE COMUNIDADES MICROBIANAS ASOCIADAS A
SEDIMENTOS DE MAGLAR Y SU RELACIÓN CON LAS
PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL AGUA INTERSTICIAL EN
DOS SISTEMAS DE MANGLAR DE PUERTO SAN CARLOS, BCS.

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Ecología de Zonas Áridas)

P r e s e n t a

Carlos Alberto Lim Vega

La Paz, Baja California Sur, marzo de 2022.

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 14:00 horas del día 01 del Mes de Marzo del 2022, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Análisis de comunidades microbianas asociadas a sedimentos de manglar y su relación con las propiedades fisicoquímicas del agua intersticial en dos sistemas de manglar de Puerto San Carlos, BCS."

Presentada por el alumno:

Carlos Alberto Lim Vega

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **ECOLOGÍA DE ZONAS ÁRIDAS**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA



Dra. Luz Estela González de Bashan
Co-Directora de Tesis

Dr. Alfonso Medel Narváez
Co-Director de Tesis



Dra. Blanca Estela Romero López
Co-Tutora de Tesis



Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro,
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos

La Paz, Baja California Sur, a 2 de Marzo de 2022.

Los miembros del comité de tesis del estudiante Carlos Alberto Lim Vega del Programa de Maestría en Uso, Manejo y Preservación de Recursos Naturales, revisamos el contenido de la tesis y otorgamos el Vo.Bo. dado que la tesis no representa un plagio de otro documento como lo muestra el reporte de similitud realizado:

- Herramienta antiplagio: Ithenticate
- Filtros utilizados:
 - Excluir citas
 - Excluir bibliografía
- Porcentajes de similitud: Máximo 20% para tesis Posgrado Se muestra captura de pantalla

Citas excluidas		12%
Bibliografía excluida		
Resumen de Coincidencias		
8 coincidencias		
2	Internet 133 palabras Copiado el 21-Jul-2020 cibnor.repositorioinstitucional.mx	1%
3	Internet 104 palabras Copiado el 18-Oct-2015 www.bashanfoundation.org	1%
4	Internet 101 palabras Copiado el 05-Jul-2021 dspace.cibnor.mx:8080	1%
5	Internet 95 palabras Copiado el 20-Jul-2019 bdigital.unal.edu.co	1%
6	Internet 93 palabras Copiado el 05-Nov-2020 docplayer.es	1%

Firmas del comité



Dra. Luz Estela González de Bashan

Co-Directora de Tesis



Dr. Alfonso Medel Narváez

Co-Director de Tesis



Dra. Blanca Estela Romero López

Co-Tutora de Tesis

Conformación de Comités

Comité Tutorial

Dra. Luz Estela González de Bashan
Bashan Institute of Science
Co-Directora de Tesis

Dr. Alfonso Medel Narváez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Director de Tesis

Dra. Blanca Estela Romero López
Bashan Institute of Science
Co-Tutora de Tesis

Comité Revisor de Tesis

Dra. Luz Estela González de Bashan
Dr. Alfonso Medel Narváez
Dra. Blanca Estela Romero López

Jurado del Examen

Dra. Luz Estela González de Bashan
Dr. Alfonso Medel Narváez
Dra. Blanca Estela Romero López

Suplente

Dra. Bárbara González Acosta

Resumen

El estudio de las comunidades bacterianas brinda información sobre los procesos que se llevan a cabo en los ecosistemas. Los estudios microbiológicos en manglares de la región han sido dirigidos a grupos bacterianos específicos tales como diazotróficas, desnitrificantes y solubilizadoras de fosfatos y utilizando técnicas cultivo-dependientes, por lo que gran parte de las comunidades en los sedimentos aún se desconoce. Las técnicas moleculares actuales permiten abordar estudios de comunidades con una mayor resolución pues son capaces de detectar bacterias no cultivables. El objetivo de este estudio fue analizar y comparar la estructura e índices de diversidad de las comunidades bacterianas en sedimentos de manglar y su relación con las propiedades fisicoquímicas del agua intersticial en dos sistemas de manglar ubicados en Puerto San Carlos, BCS, los cuales presentan diferencias fisonómicas marcadas, uno deteriorado por actividad industrial y el otro conservado. El análisis de comunidades bacterianas se abordó mediante secuenciación del gen 16S rRNA y se analizaron correlaciones con los factores fisicoquímicos del agua intersticial mediante análisis de correspondencias canónicas. Se encontró que los Phyla más abundantes fueron Proteobacteria, Chloroflexi y Desulfobacterota, con una abundancia mayor de los dos últimos en el sistema de manglar conservado, mientras Proteobacteria predominó en los sedimentos del sistema de manglar perturbado. Las dos familias más abundantes pertenecieron a bacterias sulfato-reductoras y correlacionaron positivamente con la concentración de sulfuros y el potencial redox del agua intersticial. Los índices de diversidad mostraron comunidades con alta riqueza de especies y no se observó un patrón en la distribución de especies relacionada con la profundidad de muestreo, pero si con los sitios muestreados, encontrando que el sitio sujeto a mayor perturbación por el efluente de la planta termoeléctrica presenta una composición distinta del sistema del manglar conservado y de los otros dos sitios del manglar perturbado. Este trabajo aporta conocimiento sobre la estructura y composición de comunidades bacterianas en sedimentos de manglares áridos y la relación con algunos parámetros del agua intersticial, permitiendo identificar patrones característicos en el sitio afectado por un efluente de industria termoeléctrica.

Palabras clave: Manglares, 16s ARNr, agua intersticial.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3059-4538>

Vo.Bo. Co-Directores de Tesis



Dra. Luz Estela González de Bashan



Dr. Alfonso Medel Narvárez

Summary

The study of bacterial communities provides information on the processes in ecosystems. Microbiological studies in mangroves in the region have been directed to specific bacterial groups such as diazotrophic, denitrifying, and phosphate solubilizing and using culture-dependent techniques so that a large part of the communities in the sediments is still unknown. Current molecular techniques make it possible to approach community studies with higher resolution since they can detect non-culturable bacteria. The objective of this study was to analyze and compare the structure and diversity indices of bacterial communities in mangrove sediments and their relationship with the physicochemical properties of interstitial water in two mangrove systems located in Puerto San Carlos, BCS, which present marked differences, one being deteriorated by industrial activity and the other one being preserved. The analysis of bacterial communities was approached by sequencing the 16S rRNA gene, and correlations with the physicochemical factors of interstitial water were analyzed by canonical correspondence analysis. The most abundant Phyla were Proteobacteria, Chloroflexi, and Desulfobacterota, with a greater abundance of the last two in the conserved mangrove system. At the same time, Proteobacteria predominated in the sediments of the disturbed mangrove system. The two most abundant families belonged to sulfate-reducing bacteria and correlated positively with the concentration of sulfides and the redox potential of pore water. The diversity indices showed communities with high species richness; the distribution of species was not related to the sampling depth; however, the distribution of species was related to the sampled sites. Thus, the site with greater disturbance by the effluent of the thermoelectric plant has a different composition from the preserved mangrove system and from the other two disturbed mangrove sites. This work provides knowledge about the structure and composition of bacterial communities in arid mangrove sediments and the relationship with some pore water parameters, allowing the identification of characteristic patterns in the site affected by a thermoelectric industry effluent.

Keywords: *Mangrove, 16s rRNA, interstitial water.*

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3059-4538>

Vo.Bo. Co-Directores de Tesis



Dra. Luz Estela González de Bashan



Dr. Alfonso Medel Narvárez

Dedicatoria

A mi familia y al camino, por lo vivido y lo que venga

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, con la Beca de Manutención para nivel Maestría #744531 y con el Proyecto FORDECYT 60112 “Aproximación multidisciplinaria para la generación de indicadores de estado de conservación en manglares árido-tropicales y mejoramiento de su resiliencia mediante ingeniería de interacciones planta-microbioma” a cargo de la Dra. Luz Estela González de Bashan.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. por los espacios brindados para mi desarrollo y al Programa de Estudios de Posgrados por su genuino interés en el bienestar y aprendizaje de los estudiantes.

Al Grupo de Microbiología Ambiental, por acompañarme, por la calidez y todo lo aportado para mejorar mi formación

A la Dra. Blanca Estela Romero López, por tanto. Por su apertura a la hora de compartir y por su dedicación para guiarme. Por darme el apoyo que necesitaba y por transmitirme su amor a los manglares, a la ecología microbiana y a seguir indagando.

Al Dr. Alfonso Medel Narváez, por la confianza, los consejos y por apoyarme, incluso desde antes del posgrado. Por compartirme sus conocimientos de botánica, que muy entusiasmado llegué buscando a La Baja.

A la Dra. Luz Estela González de Bashan, por hacerme sentir parte del GMA a pesar de las circunstancias, por su apertura para compartir su conocimiento, su experiencia y por sus valiosos aportes para mejorar mi trabajo.

A mis amigas: Valeria, Nuria, Jaqui, Tania, Ayenía y al viernes de combi. Por estar, por levantarme cuando lo he necesitado, por hacer más feliz esta parte de mi vida, por los paisajes descubiertos, por las risas, los cafés, los mates, los idiomas nuevos y porque ojalá que sigan estando.

A Linette y a mi familia, por tanto y porque este logro es tan mío con de ellos.

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	v
Lista de figuras	vii
Lista de tablas	viii
Abreviaturas	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. Ecología de comunidades microbianas	3
2.2. Comunidades bacterianas en sedimentos de manglar	4
2.2.1. Sulfatorreductoras en sedimentos de manglar.....	5
2.2.2. Diazotróficas en manglares	6
2.2.3. Bacterias desnitrificantes y anammox.....	7
2.2.4. Bacterias solubilizadoras de fosfato.....	7
2.3. Manglares de regiones áridas.....	8
3. JUSTIFICACIÓN	10
4. HIPOTESIS	11
5. OBJETIVOS	12
5.1. Objetivo general	12
5.2. Objetivos particulares.....	12
6. MATERIALES Y MÉTODOS	13
6.1 Área de estudio y estaciones de muestreo	13
6.2 Colecta de sedimento y extracción de AND genómico total.....	14
6.3 Cálculo de índices de Diversidad	16
6.4 Medición de parámetros fisicoquímicos del agua intersticial.....	16
6.5 Análisis estadístico de Correspondencias Canónicas	16
7. RESULTADOS	17
7.1 Estructura y composición de las comunidades bacterianas del sedimento	17
7.2 Análisis de diversidad alfa y beta	20
7.3 Parámetros fisicoquímicos del agua intersticial.....	24
7.3.1 Temperatura	25
7.3.2 pH.....	26
7.3.3 ORP.....	26
7.3.4 Salinidad.....	26
7.3.5 CE	27
7.3.6 SDT	27
7.3.7 Sulfuros	27
7.4 Análisis de correspondencias canónicas	28
8. DISCUSIÓN	30
8.1 Estructura y composición de las comunidades microbianas.....	30

8.2 Diversidad bacteriana en sedimentos	34
8.3 Relación entre estructura de comunidades bacterianas y parámetros fisicoquímicos	36
9. CONCLUSIONES	39
10. LITERATURA CITADA	40
11. ANEXO	46

Lista de figuras

- Figura 1.** Ubicación de los tres sitios de muestreo de sedimento en el Sistema de Manglar Conservado mostrando las dos profundidades de muestreo. D, E y F corresponde a muestras de 0-a 15cm, J, K y L corresponde a las muestras de 15 a 30cm de profundidad.13
- Figura 2.** Ubicación de los tres sitios de muestreo de sedimento en el Sistema de Manglar Perturbado mostrando las dos profundidades de muestreo. A, B y C corresponde a muestras de los 0-15cm, G, H y I corresponde a las muestras tomadas a 15-30cm15
- Figura 3.** Estructura de la comunidad a nivel Phylum de Bacteria y Arquea en sedimento de los dos sistemas de manglar en tres puntos de muestreo y a dos profundidades del sedimento 0-15 cm (O) y 15-30 cm (A). La barra gris indica el acumulado de ASVs con abundancias menores a 5% se agruparon en la barra gris. C: muestras del sitio conservado, P: Muestras del sitio bajo perturbación por efluente de planta termoeléctrica. Ejemplo, CA1.1 a CA3.5 indica muestras del sitio conservado uno y tres a profundidad 15-30 cm.18
- Figura 4.** Estructura de la comunidad a nivel Familia de Bacteria y Arquea en sedimento de los dos sistemas de manglar en tres puntos de muestreo y a dos profundidades del sedimento 0-15 cm (O) y 15-30 cm (A). La barra gris indica el acumulado de ASVs con abundancias menores a 5% se agruparon en la barra gris. C: muestras del sitio conservado, P: Muestras del sitio bajo perturbación por efluente de planta termoeléctrica. Ejemplo, CA1.1 a CA3.5 indica muestras del sitio conservado uno y tres a profundidad 15-30 cm.19
- Figura 5.** Ordenación por Coordenadas Principales mediante distancias de Bray-Curtis obtenidas a partir de la abundancia de secuencias V3-V4 del gen 16s ARNr en muestras de sedimento. En rojo y verde, muestras del sistema de manglar perturbado a 0-15 y 15-30 cm de profundidad. En morado y café, muestras del sistema de manglar conservado a 0-15 y 15-30cm de profundidad. En Amarillo y celeste, muestras pertenecientes al sitio 3 del sistema de manglar perturbado ...22
- Figura 6.** Ordenación por de Coordenadas Principales basado en la matriz de datos de Unifrac ponderado obtenida a partir de la secuenciación del gen 16s ARNr en muestras de sedimento. En rojo y verde, muestras del sistema de manglar perturbado a 0-15 y 15-30cm de profundidad. En morado y café, muestras del sistema de manglar conservado a 0-15 y 15-30cm de profundidad. En Amarillo y celeste, muestras pertenecientes al sitio 3 del sistema de manglar perturbado.23
- Figura 7.** Ordenación por de Coordenadas Principales basado en la matriz de datos de presencia/ausencia de Jaccard obtenida a partir de la secuenciación del gen 16s ARNr en muestras de sedimento. En rojo y verde, muestras del sistema de manglar perturbado a 0-15 y 15-30cm de profundidad. En morado y café, muestras del sistema de manglar conservado a 0-15 y 15-30cm de profundidad. En Amarillo y celeste, muestras pertenecientes al sitio 3 del sistema de manglar perturbado.24
- Figura 8.** Análisis de correspondencias canónicas de bacterias y arqueas más representativas (abundancias mayores a 1%) a nivel familia y parámetros fisicoquímicos del agua intersticial. CO= Conservado a 0-15cm, CA= Conservado a 15-30cm, PO= Perturbado a 0-15cm, PA= Perturbado a 15-30cm, P3O= Sitio 3 Perturbado 0-15cm, P3A= Sitio 3 Perturbado 15-30cm28

Lista de tablas

Tabla 1. Descriptores de diversidad alfa. Índices de Shannon-Weaver y Simpson obtenidos a partir de la caracterización de las comunidades microbianas en los dos sistemas de manglar. CO= Muestras del sistema de manglar conservado a 0-15cm, CA=Muestras del sistema de manglar conservado a 15-30cm PO= Muestras del sistema de manglar perturbado a 0-15cm, PA=Muestras del sistema de manglar perturbado a 15-30cm *Valores \pm Desviación estándar de 5 muestras. ND= No detectado.21

Tabla 2. Promedio de los parámetros fisicoquímicos medidos para cada sitio a 0-15 y 15-30cm de profundidad. ND= No detectado. *Valores \pm Desviación estándar de 5 muestras.25

Abreviaturas

ASVs	Variantes de secuencias de amplicones (Amplicon sequence variants)
PCoA	Análisis de coordenadas principales
NO	Óxido de nitrógeno
NO ₂	Dióxido de nitrógeno
H ₂ S	Sulfuro de hidrógeno
POR	Potencial oxidorreducción
CO	Muestras del manglar Conservado tomadas a 0-15cm de profundidad
CA	Muestras del manglar Conservado tomadas a 15-30cm de profundidad
PO	Muestras del manglar Perturbado tomadas a 0-15cm de profundidad
PA	Muestras del manglar Perturbado tomadas a 15-30cm de profundidad
BSR	Bacterias sulfato reductoras
BSF	Bacterias solubilizadoras de fosfatos
PLFA	Ácidos grasos de fosfolípidos (Phospholipid fatty acids)
SDT	Sólidos disueltos totales (Total dissolved solids)
DE	Desviación estándar
ARNr	Ácido ribonucleico ribosomal

1. INTRODUCCIÓN

Los manglares son ecosistemas costeros conocidos por su alta productividad, sirven de refugio, guardería, y área de reproducción a innumerables especies marinas, proveen servicios cruciales para la humanidad; son fuente de alimento y materias primas, proporcionan protección costera, soporte a pesquerías, además de ser un importante sumidero de carbono (Lee *et al.*, 2004). Estas características los convierten en ecosistemas prioritarios ante el panorama de cambio climático y la necesidad de reducir el CO₂ atmosférico. A pesar de la relativamente pequeña extensión global, los ecosistemas costeros son desproporcionadamente importantes en secuestro de CO₂ en comparación con los ecosistemas terrestres (McLeod, *et al.*, 2011); los manglares se encuentran entre los ecosistemas de mayor productividad a nivel global. Estos ecosistemas están localizados en zonas intermareales lo que los hace susceptibles a perturbaciones tanto naturales como antrópicas. Entre los eventos naturales que tienen un efecto negativo sobre los manglares encontramos a huracanes y sequías. Las perturbaciones naturales representaron el 46% de las pérdidas de manglares a escala global en el periodo 2010-2016, el 54% restante se atribuye a actividades antropogénicas. En México la principal causa de pérdida de manglares se debe a cambios de uso de suelo y sobreexplotación. En el caso de los manglares de la región Pacífico norte, se reportan mayores pérdidas por erosión costera, seguido por el cambio de uso de suelo para actividades acuícolas o agrícolas (Goldberg *et al.*, 2020). Los manglares áridos, se caracterizan por tener un mínimo aporte mínimo de agua dulce, altas temperaturas, altos niveles de radiación solar y altas tasas de evapotranspiración; esta combinación de condiciones da lugar a manglares con baja humedad e hipersalinidad, lo que limita el crecimiento de las especies vegetales que alcanza una altura media de 2.5m y en comparación con los manglares húmedos, presentan menor productividad. Además de las condiciones adversas recién mencionadas, los manglares áridos son ecosistemas pobres en nutrientes esenciales como N y P, estas deficiencias eran consideradas paradójicas por algunos investigadores, debido a que, a pesar de ser pobres en nutrientes, presentan una alta productividad, dicha paradoja la explica un altamente eficiente reciclaje de nutrientes, en el que participan macro y microorganismos. La intensa y diversa actividad microbiana es la principal responsable de la retención de los escasos nutrientes en el sistema. (Alongi *et al.*, 1993; Alongi, 1994; Holguin *et al.*, 2001). En los manglares tropicales, las bacterias y los hongos constituyen el

91% de la biomasa microbiana total, mientras que las algas y los protozoos representan solo el 7% y el 2% (Alongi 1988).

Las bacterias son responsables de la mayor parte del flujo de energía, al llevar a cabo la degradación de hojas, tallos y raíces de manglar muerto incorporan nitrógeno, fosforo y otros nutrientes que son aprovechados por las plantas, que a su vez liberan exudados radiculares que sirven de sustento a los microorganismos del sistema. La relación bacteria-nutrientes-planta favorece el reciclaje y la conservación de los nutrientes dentro del ecosistema.

Es sabido que la velocidad en la que se llevan a cabo los procesos de descomposición de la materia orgánica y aprovechamiento de nutrientes depende de diversos factores bióticos y abióticos a los que los microorganismos son particularmente sensibles y que los cambios introducidos por perturbaciones naturales o antrópicas tienen efectos en el reciclaje y por ende en el estado de conservación del ecosistema. A pesar de saberse que las comunidades microbianas son las principales responsables del proceso de reciclaje de nutrientes en sedimentos de manglar, en manglares de zonas áridas poco se sabe sobre cómo están estructuradas o cuan diversas son.

2. ANTECEDENTES

2.1. Ecología de comunidades microbianas

El concepto de comunidad se define como el ensamble de múltiples especies, interactuando en un ambiente definido. El concepto de ecología de comunidades surgió con el estudio de organismos superiores (plantas y animales). La ecología de comunidades analiza cómo se estructuran los ensambles biológicos, cuales son, qué y cómo se llevan a cabo las interacciones y cómo cambia la estructura de las comunidades en el espacio-tiempo. La definición y naturaleza de 'comunidad' ha sido objeto de debate por más de un siglo, en los que su delineamiento ha tenido más que ver con el interés de los ecólogos que con características inherentes de la comunidad y en el caso de comunidades microbianas, la delimitación y definición de 'interacción' se torna aún más compleja (Konopka, 2009). Levins & Lewontin (1985), planteaban que los límites de las comunidades tienen más que ver con las interacciones presentes entre los miembros, que con las barreras físicas del ambiente. En ecología microbiana, la influencia de los microorganismos se da en escalas micrométricas, más que en milimétricas y exceptuando organismos multicelulares, sin embargo, la producción de metabolitos y el consumo de sustratos en sedimentos saturados de agua puede llegar a crear gradientes químicos de metros, volviendo problemática la delimitación del espacio de interacción y de ambientes contiguos, que terminan siendo definidos por el interés del investigador (Wakeham *et al.*, 2007).

En los ecosistemas, la distribución de los microorganismos y de propiedades fisicoquímicas es por parches, incluso en aquellos ambientes que aparentan tener condiciones homogéneas (Azam & Malfatti, 2007). En ecología microbiana, esto representa un rango de macroescalas en las que se lleva a cabo el ensamble de comunidades y que tienen que ser delimitadas por el investigador. El correcto análisis de comunidades microbianas debe realizarse acompañado de la determinación de componentes abióticos, como microescala física y propiedades fisicoquímicas, aunque existe un gran número de elementos más. Levin (1999) plantea que la comprensión del comportamiento y lo que sucede a nivel fisiológico en los individuos, aunado a propiedades emergentes tales como productividad y resiliencia, son el mayor desafío para los ecólogos.

2.2. Comunidades bacterianas en sedimentos de manglar

Las estrechas interacciones entre microorganismos y plantas favorecen el reciclaje de nutrientes dentro del sistema. Este reciclaje consiste en la transformación de nutrientes de vegetación muerta de manglar llevada a cabo por una amplia diversidad de microorganismos, los productos de esta transformación son fuentes de nitrógeno, fósforo y otros nutrientes que pueden ser utilizados por las plantas, que a cambio exudan compuestos que son utilizados por los microorganismos.

Las bacterias, principales responsables del flujo de carbono en los sedimentos de manglar, se encargan de procesar la mayor parte del flujo de nutrientes y energía, además de actuar como sumideros de carbono. A causa de la ampliamente demostrada importancia en los ecosistemas, los microorganismos han sido sujeto de estudio desde varios enfoques, como diversidad vegetal, reguladores de productividad y dinámica de poblaciones. (Van der Heijden *et al.*, 2008). La necesidad de entender los procesos en los suelos, principalmente agrícolas, ha llevado al desarrollo de métodos accesibles económicamente y fáciles para medir aspectos relacionados con fertilidad del suelo, producción de gases de efecto invernadero y neutralización de contaminantes, que posteriormente han sido empleados en otras áreas de investigación. La asequibilidad de los métodos se ha traducido en un aumento en las publicaciones relacionadas con la taxonomía y funcionalidad bacteriana. (Ruiz *et al.*, 2019)

Desde inicios de los '90 se detectó lo limitado que era el estudio de microorganismos cultivables para describir la diversidad taxonómica y funcional de las comunidades en su totalidad debido a que la fracción de cultivables representaba una proporción mínima de la totalidad de la comunidad (Torsvik *et al.*, 1990). Hasta la introducción de las técnicas basadas en ácidos nucleicos, el método más empleado para realizar comparaciones en composición de comunidades microbianas era el análisis cuantitativo de ácidos grasos de fosfolípidos (PLFA, por sus siglas en inglés) (Hedrick *et al.*, 2007), método insuficiente al haber diferentes microorganismos que comparten el mismo tipo de PFLA, pero que permitía identificar grupos con perfiles característicos. Posterior al uso de PFLA, se empleó el análisis de perfiles metabólicos, basado en la premisa en que diferentes comunidades difieren en sus patrones de aprovechamiento de sustratos, dicho análisis es útil para conocer la estructura y potenciales

aspectos funcionales de la comunidad (Xue, *et al.*, 2008). Por otro lado, los análisis basados en secuencias de ARN ribosómico proporcionan información taxonómica o filogenética pero no funcional, tan solo se puede inferir una función para algunos grupos filogenéticos (ej. Cianobacterias) pero no para la mayoría de los microorganismos, por lo que la conjunción de estudios fisiológicos y metagenómicos proporcionan un panorama más amplio la funcionalidad de los microorganismos en los suelos.

A la fecha los estudios metagenómicos realizados en manglares son escasos y la mayoría de estos en el continente asiático (Basak *et al.*, 2015; Alzubaidy *et al.*, 2016; Haldar & Nazareth, 2018; Li *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2019). A pesar de la diversidad de factores de los diferentes manglares que se han estudiado, se han encontrado resultados consistentes, el filo predominante en sedimentos de manglar es Proteobacteria, seguido de Chloroflexi, Firmicutes y Acidobacteria.

En la Península de Baja California, aún se desconoce gran parte la diversidad microbiana de los sedimentos de manglar, los estudios que se han realizado son escasos y han sido realizados con técnicas dependientes de cultivo, enfocados en grupos específicos (fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfato) (Holguín, *et al.*, 1992, Toledo *et al.*, 1995, Vazquez, *et al.*, 2000). Entre los pocos estudios moleculares en sedimentos de manglar se encuentra los estudios de Flores *et al.*, (2007) que analizó la diversidad de bacterias fijadoras de nitrógeno y desnitrificantes mediante el estudio de los genes funcionales *NirK*, *NirS* y *NifH*. Por otro lado, González *et al.*, (2006) caracterizó las comunidades bacterianas de sedimentos de manglar mediante la técnica SSCP (*Single Strand Conformation Polimorfism*). De 2007 a la fecha no se cuenta con estudios sobre comunidades microbianas en manglares áridos de la Península de Baja California.

2.2.1. Sulfatorreductoras en sedimentos de manglar

Las bacterias sulfatorreductoras (BRS) son el grupo predominante en sedimentos de manglar, debido a la condición de anaerobiosis provocada por la constante inundación de los sedimentos, en los que la respiración aerobia está limitada a pocos milímetros de la capa superficial. La sulfatorreducción representa más del 90% de las emisiones de CO₂ en sedimentos (Kristensen *et*

al., 1991), jugando un papel importante en los ciclos del carbono y del azufre e influyendo en la solubilización de Fe y P (Holguín *et al.*, 2001). En muestras rizosféricas de manglares (*Rhizophora mangle* y *Avicennia germinans*) en Florida, las BRS mostraron la mayor densidad con 10^6 UFC g⁻¹ en peso fresco. Este grupo bacteriano es nutricionalmente versátil, lo que los hace un grupo altamente competitivo, su presencia depende de la concentración de oxígeno, puesto que la mayoría de ellas son anaerobias estrictas, aunque se han encontrado BSR microaerofílicas. Su tasa metabólica depende de la disponibilidad de materia orgánica y de la presencia de formas oxidadas de azufre. Los sedimentos de manglar presentan condiciones ideales para este grupo de microorganismos al haber, condiciones de anoxia, alto contenido de materia orgánica y sulfatos. Las BRS utilizan compuestos oxidados de azufre como aceptor de electrones y producen sulfuros al oxidar compuestos orgánicos para generar energía (Feng *et al.*, 2018).

2.2.2. Diazotróficas en manglares

Los manglares a pesar de ser ecosistemas ricos en materia orgánica y altamente productivos son deficientes en nitrógeno, lo que limita su crecimiento. Los principales factores relacionados con la pérdida de nitrógeno son, exportación por mareas, desnitrificación y el tipo de suelo (Boto & Robertson, 1990).

Se estima que las bacterias diazotróficas contribuyen con aproximadamente el 60% del nitrógeno demandado por el sistema y las mayores tasas de fijación ocurren en la zona raíz de los manglares, aunque se sabe, también se lleva a cabo en sedimentos, hojas en descomposición, neumatóforos y tallos (Gotto & Taylor, 1976; Zuberer & Silver, 1978; Uchino *et al.*, 1984; Holguin *et al.*, 1992). Bashan *et al.*, (1998) demostraron transferencia de nitrógeno fijado por cianobacterias a plántulas de *Avicennia germinans* mediante el uso de isótopos de nitrógeno.

La fijación de nitrógeno es llevada a cabo por una gran diversidad de grupos bacterianos. En sedimentos de manglar se han identificado los siguientes géneros de bacterias diazotróficas: *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Rhizobium*, *Klebsiella*, *Paracoccus*, *Phyllobacterium*, *Oceanomonas* y *Vibrio* (Sengupta & Chaudhuri 1991, Holguin *et al.*, 1992, Kathiresan & Selvam, 2006; Flores-Mireles *et al.*, 2007), algunos aislados han sido evaluados en interacción con otros microorganismos, encontrando

que en algunos casos la interacción favorece la fijación de nitrógeno (Holguin *et al.* 1992). Las bajas concentraciones de nitrógeno y condiciones de microaerofilia propician la expresión de genes relacionados con la fijación de nitrógeno (Glick *et al.*, 1999). Un estudio realizado en un manglar de Baja California Sur encontró una mayor diversidad de bacterias diazotróficas en sitios con bajas concentraciones de oxígeno y alta concentraciones de materia orgánica (Flores-Mireles *et al.*, 2007).

2.2.3. Bacterias desnitrificantes y anammox

Más de la mitad de la pérdida de nitrógeno en manglares es a través de la desnitrificación (Chiu *et al.*, 2004), en donde el nitrato (NO_3) es reducido a nitrito (NO_2), óxidos de nitrógeno (NO y N_2O) y nitrógeno molecular (N_2) (Ghiglione *et al.*, 2000), sin embargo, bajo ciertas condiciones la oxidación anaerobia del amonio (anammox) puede representar hasta el 67% de la pérdida de nitrógeno en sedimentos marinos (Thamdrup & Dalsgaard, 2002). Aunque estos dos procesos suceden en conjunto, la desnitrificación ha demostrado ser un proceso más efectivo mineralizando nitrógeno. La desnitrificación la realiza una gran diversidad de microorganismos poco relacionados y principalmente representados por el Phylum Proteobacteria, también cuenta con representantes en Firmicutes, Actinomycetes, Bacteroidetes y Aquificaceae, dentro del dominio Bacteria, además de contar con representantes en Archaea. Anammox, contraria a la desnitrificación, cuenta únicamente con representantes en el Phylum Planctomycetota.

La coocurrencia de estos dos grupos bacterianos juega un papel clave en la productividad total de N en los sedimentos. En sistemas de manglares con bajo aporte de nutrientes la tasa de desnitrificación se reduce y son favorecidas reacciones de reducción desasimilatoria de nitrato, teniendo como producto amoníaco (Fernandes *et al.*, 2012), este es uno de los procesos más efectivos que mantiene el nitrógeno dentro del sistema. En estudios realizados en manglares de Baja California Sur, se encontró que las bacterias desnitrificantes mostraban menor abundancia que las diazotróficas (Flores *et al.*, 2007).

2.2.4. Bacterias solubilizadoras de fosfato

Seguido del nitrógeno, el fósforo es el nutriente más requerido, por ser un elemento clave en la transferencia y almacenamiento de energía a nivel celular. Las bacterias solubilizadoras de

fosfatos juegan un rol crucial al proveer un nutriente limitante a un ecosistema altamente productivo, como lo son los manglares.

El fósforo es poco soluble, debido a procesos de adsorción o precipitación química, que disminuyen su biodisponibilidad y que vuelven necesario y crítico el papel de las bacterias solubilizadoras de fosfatos (PSB). Estas bacterias son capaces de disolver formas de fosfatos inmovilizadas por cationes de calcio, hierro y aluminio, a formas asimilables por plantas y algas. Además de solubilizar fosfatos, las PSB han sido reportadas con potencial en la producción de fitohormonas, agentes quelantes y en la fijación de nitrógeno, características que favorecen el crecimiento vegetal. (Jiang, *et al.*, 2008, Hariprasad & Niranjana, 2009, Matilla *et al.*, 2009). Las PSB son diversas e incluyen tanto aerobias como anaerobias y entre los mecanismos de solubilización encontramos producción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y extrusión de protones (Raghu & MacRae, 1966; Goldstein *et al.*, 1995), los mismos mecanismos encontrados en especies vegetales que se asocian a quelación de cationes de aluminio, hierro y calcio y al descenso del pH en los suelos. En el 2000, Vazquez y colaboradores caracterizaron, aislaron y evaluaron por primera vez a PSB en raíces de manglar de la Península de Baja California. BCS, encontrando que la solubilización no sólo depende del pH sino también a la naturaleza química de los ácidos liberados por los microorganismos

2.3. Manglares de regiones áridas

Este tipo de manglares presenta una fisonomía distinta a los de otras regiones, son árboles achaparrados, con altura máxima de cinco metros, forman bosques densos (de hasta 5575 árboles por hectárea), con una tasa de crecimiento y productividad significativamente menor a la de manglares húmedos. La baja productividad se traduce en un menor almacenamiento de carbono y menor contenido de nitrógeno en el suelo, además los manglares áridos tienen una capacidad de acumulación de sedimentos mínima. Presentan valores de temperatura, radiación, precipitación y salinidad que son considerados extremos en este tipo. Las altas temperaturas y la intensidad de la radiación provocan altos índices de evapotranspiración, que aunado a la baja precipitación resulta en altos niveles de salinidad. Los manglares reducen la frecuencia de apertura estomática para minimizar la pérdida de agua, que se vuelve más importante aún en condiciones de salinidad y temperatura extrema. A pesar de tratarse de especies adaptadas a

condiciones hipersalinas, en ocasiones se rebasa el umbral de tolerancia fisiológica. Sortear los altos niveles de salinidad y las altas tasas de evapotranspiración tiene un coste metabólico alto, que se reflejado en la tasa de asimilación de carbono y evapotranspiración. (Adame *et al.*, 2020). Los mangares áridos presentan bajo contenido de N y P en sedimentos (Holguín *et al.*, 2001). A su vez bajos niveles de nitrógeno están asociados a niveles bajos de desnitrificación (Adame *et al.*, 2019) altos aportes de N_2H , elevadas tasas de fijación de N y altos niveles de exportación de NH_4 (Adame *et al.*, 2020).

3. JUSTIFICACIÓN

Los manglares son considerados ecosistemas prioritarios por el desproporcionado número de servicios ecosistémicos que brindan en relación con el área que ocupan. Los servicios ecosistémicos que proveen los manglares dependen del estado óptimo del sistema, la degradación de estos conlleva a la pérdida de los servicios provistos y al incremento de la emisión de gases de efecto invernadero, producto del metabolismo heterotrófico sobre la materia orgánica almacenada en los sedimentos.

Al ser un ecosistema bajo presión antrópica y a una mayor frecuencia de perturbaciones naturales, se vuelve urgente la generación de estrategias de conservación y restauración donde se integre, además del componente vegetal, a las comunidades microbianas de los sitios y los factores que influyen en ellas.

Los estudios de comunidades bacterianas en manglares árido-tropicales aún son escasos. La estructura y composición de las comunidades bacterianas en sedimentos de manglares árido-tropicales ha sido mínimamente explorada, a pesar del rol fundamental que desempeñan en el reciclaje de nutrientes críticos y por tanto en la salud del ecosistema. Por ello, el presente trabajo analiza las diferencias en la estructura, composición y diversidad de las comunidades bacterianas de: un sistema de manglar sujeto a perturbación térmica-química, causada por un efluente de la planta termoeléctrica que descarga en el manglar, y un sistema de manglar en buen estado de conservación. Este trabajo pretende contribuir al conocimiento sobre las comunidades bacterianas en sedimentos de manglares áridos y su respuesta ante el tipo de perturbación ya mencionada, además de servir de línea base en la búsqueda de indicadores de estado de conservación en comunidades bacterianas de sedimentos de manglar de la península.

4. HIPOTESIS

Si las comunidades bacterianas del sedimento de manglar se adecuan a cambios en el ambiente, entonces ante una perturbación por contaminación de un efluente térmico-salino se pueden reconocer patrones en su estructura, composición y diversidad relacionados a cambios en las variables fisicoquímicas del agua intersticial del sedimento.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

- Analizar cambios en la estructura, riqueza y diversidad de las comunidades bacterianas en sedimentos y su relación con las propiedades fisicoquímicas del agua intersticial en dos sistemas de manglar.

5.2. Objetivos particulares

- Caracterizar y comparar la estructura, composición e índices de diversidad de las comunidades bacterianas de sedimentos de manglar con diferente condición de conservación
- Analizar la relación entre la estructura de las comunidades bacterianas y los parámetros fisicoquímicos del agua intersticial de dos sistemas de manglar con diferente condición de conservación

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Área de estudio y estaciones de muestreo

Se estudiaron los sedimentos de manglar en dos sitios localizados en Puerto San Carlos, pertenecientes a la región de manglares de Bahía Magdalena, en Baja California Sur. Bahía Magdalena se encuentra entre los complejos lagunares más grandes del país, cuenta con una larga historia de estudios ecológicos y es reconocida por CONABIO como sitio de manglar de relevancia biológica o con necesidad de rehabilitación ecológica.

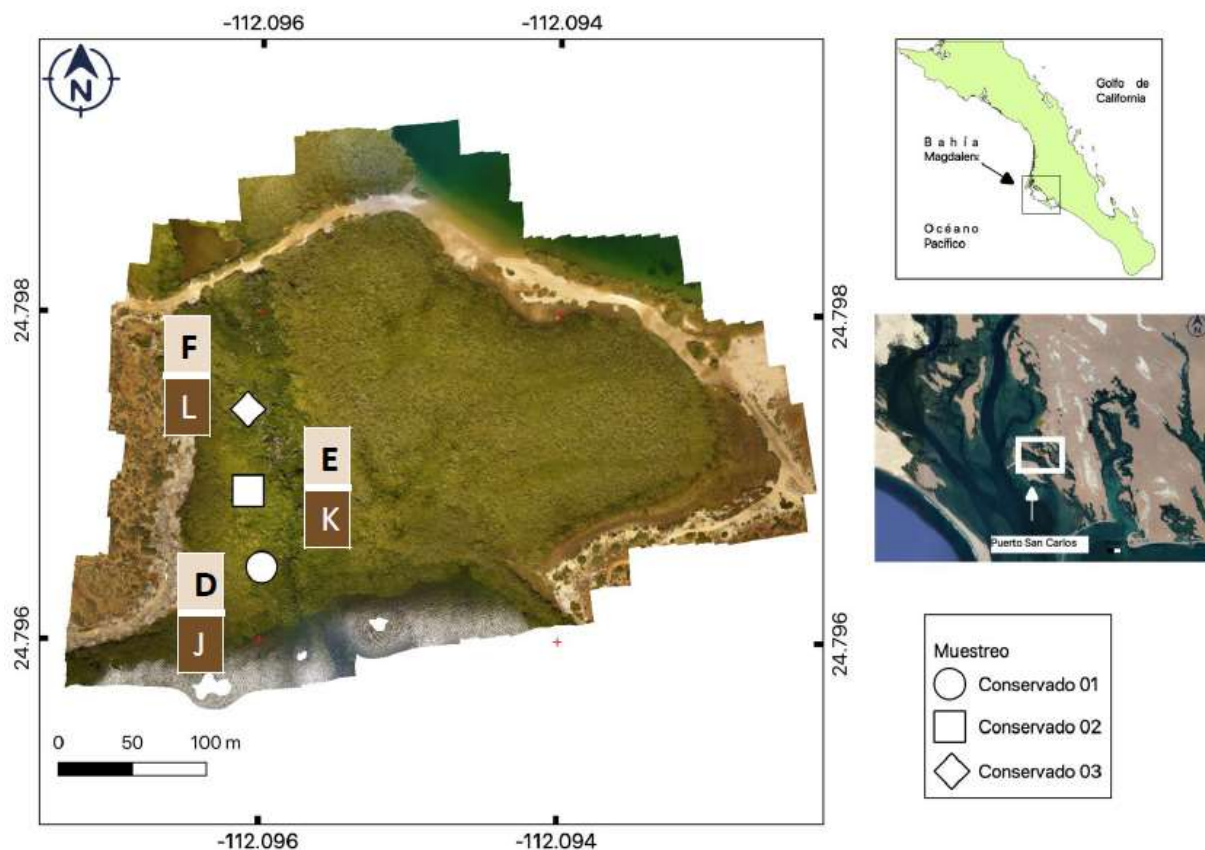


Figura 1. Ubicación de los tres sitios de muestreo de sedimento en el Sistema de Manglar Conservado mostrando las dos profundidades de muestreo. D, E y F corresponde a muestras de 0-a 15cm, J, K y L corresponde a las muestras de 15 a 30cm de profundidad.

Presenta la mayor extensión de manglares de la península de Baja California, representando el 70% de la superficie de manglares del estado (Acosta & Luna, 2007). Los bosques de manglar de Bahía Magdalena están conformados por mangle rojo (*Rhizophora mangle*), negro (*Avicenia germinans*) y blanco (*Laguncularia racemosa*). Los aportes de materia orgánica de los bosques

de manglar propician la formación de sedimentos, constituyen una fuente de alimento para un gran número de vertebrados e invertebrados de varios niveles tróficos de alto valor ecológico y comercial (Chávez. 2006).

La región tiene clima muy árido, semicálido, una temperatura anual promedio de entre 18 y 21°C y precipitación anual promedio de 115mm. La vegetación dominante está compuesta por *A. germinans*, *L. racemosa* y *R. mangle*.

El sistema de manglar conservado (Fig. 1) presenta una fisonomía saludable, hojas verdes, con menos del 5% de individuos muertos, mientras el sistema de manglar denominado con perturbado (Fig. 2), que recibe una descarga de agua de la planta termoeléctrica, presenta evidencias de deterioro en forma de gradiente, presentando una zona de mayor afectación mayor en el sitio más cercano a la descarga (Sitio P3, Fig. D). El tipo de contaminación de estos efluentes es térmica y química, puesto que se descarga agua con temperaturas más elevadas a las del agua de mar y con una salinidad mayor.

Los sitios P1 y P2 muestran una fisonomía del manglar similar a las de los 3 sitios del sistema de manglar conservado, en cuanto a cobertura vegetal y características de los sedimentos.

6.2 Colecta de sedimento y extracción de ADN genómico total

El muestreo se llevó a cabo entre 8 am y 4 pm en condiciones de marea baja en el mes de febrero 2020. La colecta de muestras de sedimento se realizó por quintuplicado en cada sitio y en sus dos profundidades (0-15 y 15-30cm) utilizando un nucleador de acero inoxidable barrena Gubia inoxidable de 2.5 × 40 pulgadas (AMS ID, USA). De cada núcleo se descartó la capa superficial del sedimento (0.5cm) y realizando un raspado para cada estrato se extrajeron 0.5g de sedimento. Las muestras para el análisis de estructura de comunidades bacterianas se colectaron en tubos Eppendorf de 1.5ml libres de ácidos nucleicos con 400 µl de DNA/RNA Shield (ZymoResearch, CA, USA), posteriormente almacenadas a -80°C. La extracción de ADN genómico total se realizó con el kit ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit. Después la extracción, las muestras fueron enviadas a servicio de secuenciación a ZymoBIOMICS, teniendo como objetivo las regiones V3 y V4 del gen 16s rRNA.

6.2.1 Análisis Bioinformático

A las lecturas se les realizó un filtrado de calidad, aquellas con puntaje Phred (Q) > 25 se usaron para el análisis de inferencia de amplicones con el programa de DADA2. La asignación taxonómica se realizó en la plataforma QIIME2 y empleando la base de datos de SILVA v138. Posterior a la asignación taxonómica se procedió a la generación de gráficos de barras apiladas para el análisis de estructura de comunidades en el programa R, exportando la tabla de abundancias con asignación taxonómica y empleando los paquetes metagenomeSeq v1.32.0 (McMurdie y Holmes, 2015) y ggplot2 (Wickham, 2009).

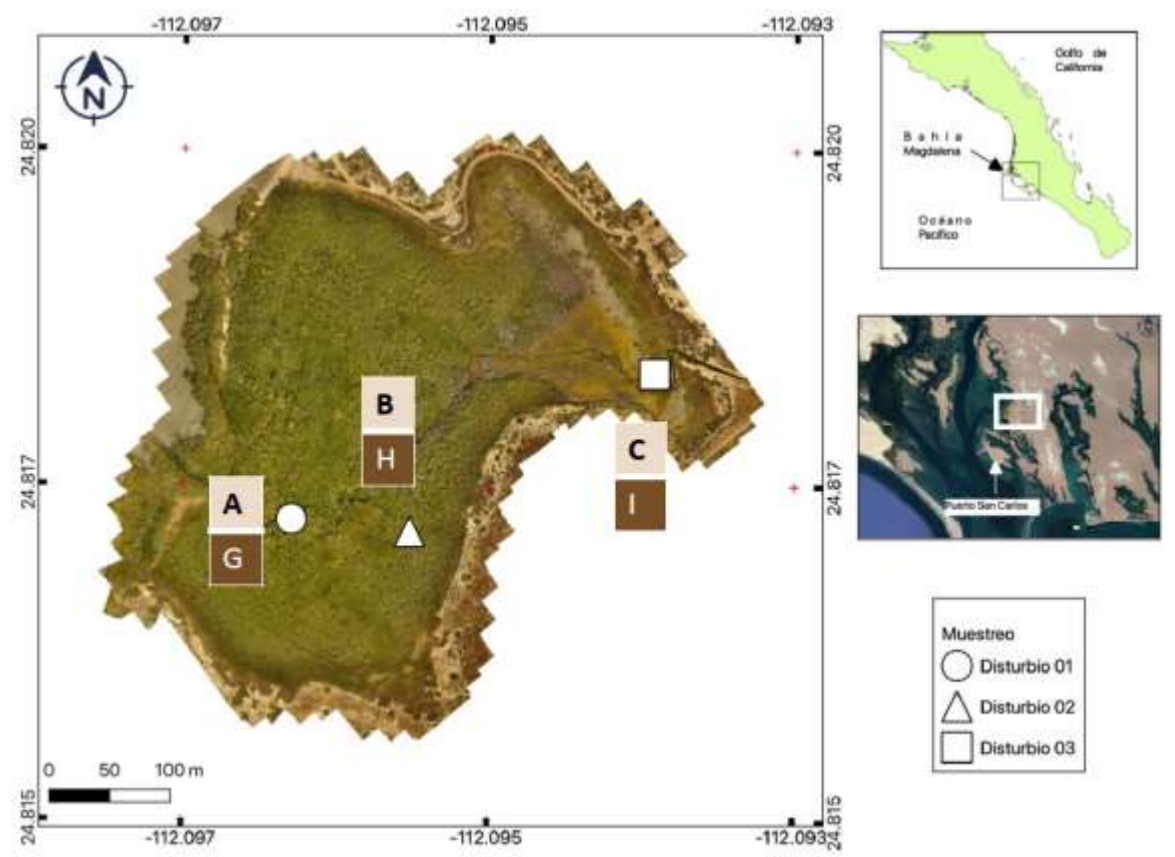


Figura 2. Ubicación de los tres sitios de muestreo de sedimento en el Sistema de Manglar Perturbado mostrando las dos profundidades de muestreo. A, B y C corresponde a muestras de los 0-15cm, G, H y I corresponde a las muestras tomadas a 15-30cm

6.3 Cálculo de índices de Diversidad

Los índices de diversidad alfa se determinaron a nivel Familia en R con el uso de la biblioteca Phyloseq v3.1 (McMurdie & Holmes, 2015), se calcularon los índices de Shannon, Simpson y Chao, la diversidad alfa entre sistemas de manglar se calculó en la plataforma QIIME2 v2020.11 (Bolyen *et al.*, 2019) a nivel ASV.

El análisis de beta diversidad se realizó en la plataforma QIIME2 v2020.11 (Bolyen *et al.*, 2019), en estos se emplearon análisis de coordenadas principales (PCoA) para los índices de distancias de Bray-Curtis, y distancias de Jaccard. Los agrupamientos generados por distancias de Bray-Curtis consideran la abundancia de especies, mientras distancias de Jaccard se calcula empleando únicamente presencia-ausencia de especies.

6.4 Medición de parámetros fisicoquímicos del agua intersticial

La toma de muestras para las determinaciones de parámetros fisicoquímicos se realizó a dos profundidades 0-15 y 15-30cm, con el uso de una sonda, evitando burbujas de aire y sólidos suspendidos al momento de realizar la extracción del agua. Una vez extraída el agua esta fue analizada con el equipo ULTRAMETER II 6Pfc, se realizaron las siguientes determinaciones: temperatura, pH, potencial redox (ORP), conductividad eléctrica (CE) y sólidos disueltos totales (TDS). La salinidad se midió con un refractómetro y las determinaciones de sulfitos se realizaron con el kit para determinación de sulfuros de HACH modelo HS-WR (HACH. CO, USA).

6.5 Análisis estadístico de Correspondencias Canónicas

Para este análisis se integraron las matrices de abundancias de ASVs absolutas resultantes del análisis bioinformático y las matrices de parámetros fisicoquímicos medidos en campo. El análisis se realizó en el programa Past 4.06b (Hammer *et al.*, 2001)

7. RESULTADOS

7.1 Estructura y composición de las comunidades bacterianas del sedimento

En el filtrado de calidad se realizó el corte las primeras 10 bases y se truncaron las secuencias en la base 305 con la herramienta DADA2, que además de realizar los cortes de las secuencias, filtra secuencias de baja calidad y quimeras. Una vez realizada el filtrado de calidad de las secuencias se obtuvieron un total de 40,361 variantes de secuencias de amplicones (ASV).

La asignación taxonómica global de los dos sitios de estudio dio como resultado un total de 76 Phyla, 188 Clases, 424 Ordenes, 595 Familias, 830 Géneros y sólo se lograron identificar a nivel de especies a 91 ASVs, distribuidos en todas las muestras.

Para los análisis de diversidad alfa y beta se realizó una curva de rarefacción (Anexo 3) que mostró que la profundidad de secuenciación fue suficiente para capturar el mayor número de ASVs. El parámetro utilizado para profundidad de rarefacción fue el de la muestra con el menor número de lecturas, la cual cuenta un total de 13,316 lecturas.

En el análisis de estructura de comunidades microbianas se encontraron un total de 76 Phyla y 595 familias. Los filos más representativos (aquellos que tuvieron una abundancia mayor al 5%) fueron únicamente 12 y representan alrededor del 85% de las abundancias, el resto, 64 de los Phyla se encuentran en bajas abundancias, son denominados biosferas raras y a nivel de Phylum representan cerca del 15% de los Phyla.

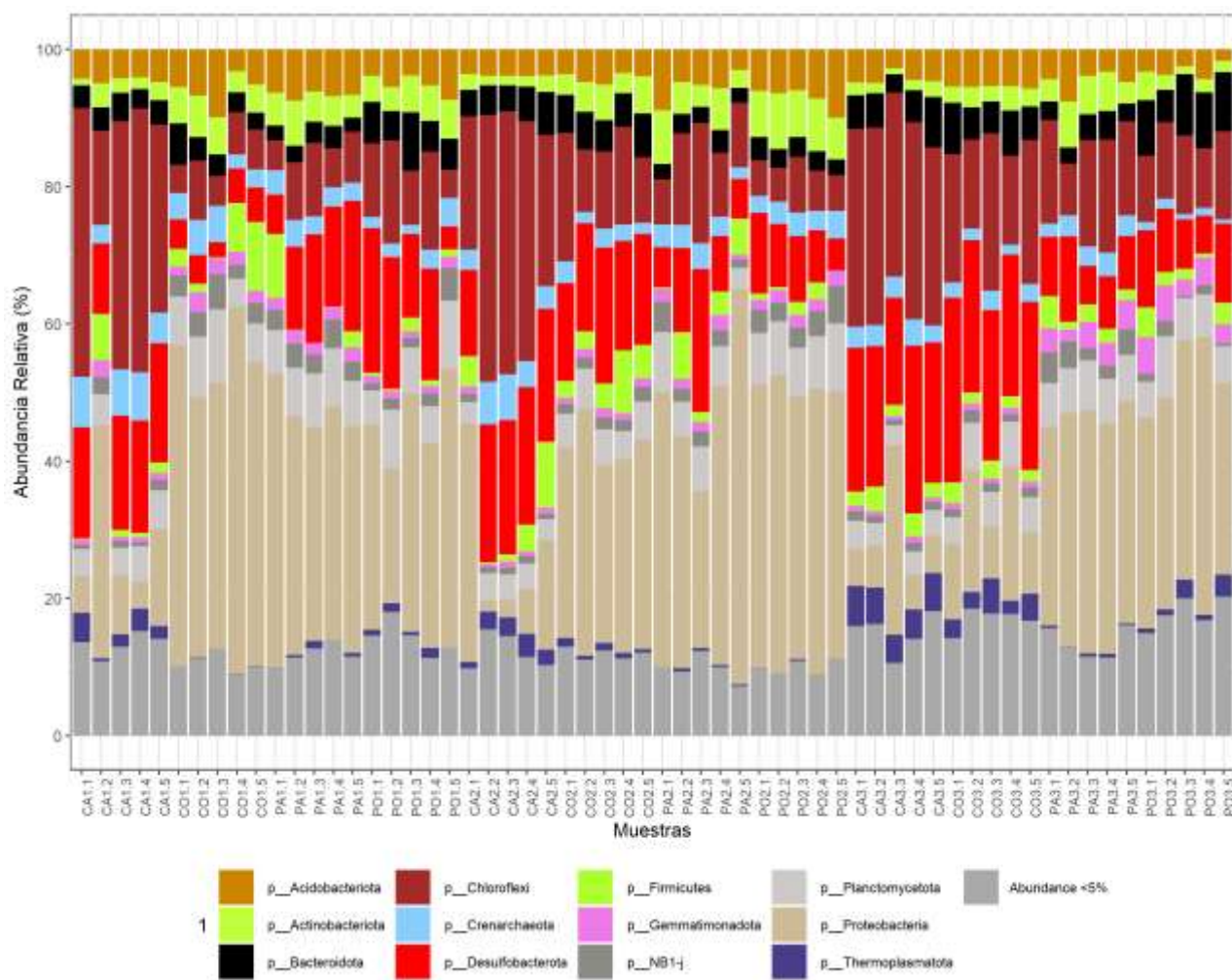


Figura 3. Estructura de la comunidad a nivel Phylum de Bacteria y Arquea en sedimento de los dos sistemas de manglar en tres puntos de muestreo y a dos profundidades del sedimento 0-15 cm (O) y 15-30 cm (A). La barra gris indica el acumulado de ASVs con abundancias menores a 5% se agruparon en la barra gris. C: muestras del sitio conservado, P: Muestras del sitio bajo perturbación por efluente de planta termoeléctrica. Ejemplo, CA1.1 a CA3.5 indica muestras del sitio conservado uno y tres a profundidad 15-30 cm.

El Phylum de mayor abundancia fue Proteobacteria, que predominó en todas las muestras del manglar perturbado y en la mitad de las muestras del manglar conservado, este fue seguido por Chloroflexi, que en algunas muestras del manglar conservado presentó la mayor abundancia. El tercer grupo más abundante fue Desulfobacterota, compuesto por bacterias sulfato reductoras y recientemente separado de Proteobacteria (Waite *et al.*, 2020). Las BSR, presentaron mayores abundancias en las muestras del sistema de manglar conservado, con respecto a las muestras del sistema de manglar perturbado. Este grupo presentó mayor abundancia en las muestras de

manglar conservador, seguido de estos grupos están Planctomycetota, Acidobacteriota y Bacteroidota, estos 6 Phyla estuvieron presentes en todas las muestras y representan alrededor del 70% de las abundancias totales. En menor abundancia se encuentran los Phyla: Actinobacteriota, NB1-j, Firmicutes, Gemmatimonadota y los Phyla arqueanos Crenarchaeota y Thermoplasmatota.

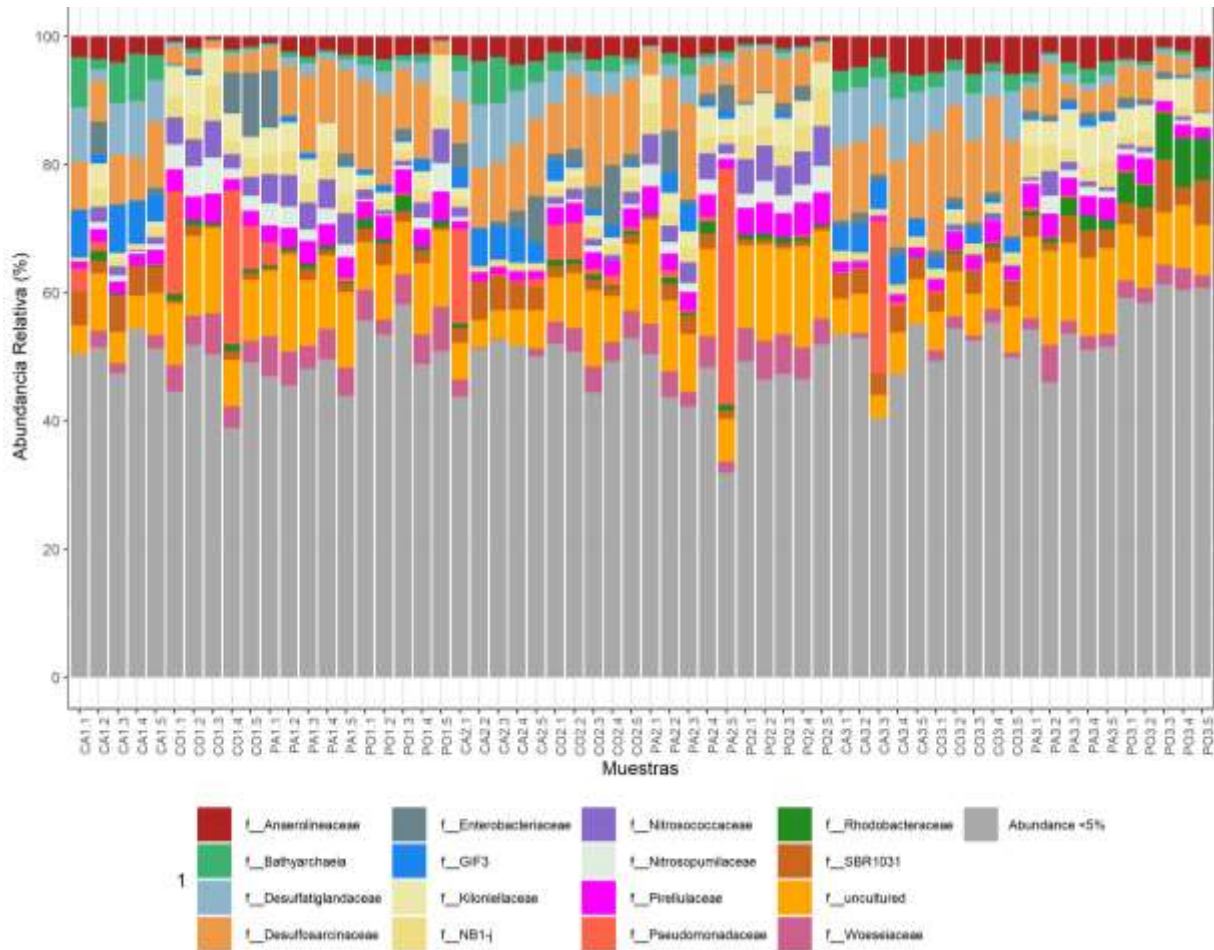


Figura 4. Estructura de la comunidad a nivel Familia de Bacteria y Arquea en sedimento de los dos sistemas de manglar en tres puntos de muestreo y a dos profundidades del sedimento 0-15 cm (O) y 15-30 cm (A). La barra gris indica el acumulado de ASVs con abundancias menores a 5% se agruparon en la barra gris. C: muestras del sitio conservado, P: Muestras del sitio bajo perturbación por efluente de planta termoeléctrica. Ejemplo, CA1.1 a CA3.5 indica muestras del sitio conservado uno y tres a profundidad 15-30 cm.

A nivel Familia las más abundantes pertenecen a Familias de bacterias sulfato reductoras y están representadas por Desulfosarcinaceae y Desulfatiglandaceae, y en menor proporción, bacterias pertenecientes al grupo de las NB1-j, que presentaron mayor abundancia en las

muestras que tuvieron menor abundancia de las dos principales familias de sulfato reductoras. El segundo grupo más abundante está representado por familias relacionadas con el ciclo del nitrógeno, en estas encontramos a: Nitrosococcaceae, Pirellulaceae y a la familia de arqueas Nitrosopumilaceae. El tercer grupo más dominante corresponde a familias de bacterias fotosintéticas, la más abundante de estas es Kiloniellaceae y Rhodobacteraceae, que presentaron mayores abundancias en las muestras del estrato que representa 0-15cm de profundidad. Seguido de estas, están dos familias relacionadas con la metanogénesis, SBR1031 y Bathyarchaeia y en familias involucradas en la solubilización de fosfatos encontramos a Pseudomonaceae y Enterococcaceae. Las familias con una abundancia mayor a 5%, representan alrededor del 35% de las abundancias, el 65% restante, corresponde a las denominadas 'biosferas raras'.

7.2 Análisis de diversidad alfa y beta

La diversidad alfa encontrada fue similar para todos los sitios, sin distinción entre sistemas o estrato muestreado. El índice de Shannon-Weaver presentó valores con un rango entre 3.87 ± 0.09 perteneciente al sitio CO1 y 4.36 ± 0.1 perteneciente al sitio PO3, el índice de Shannon da mayor importancia a la diversidad de especies que a la dominancia de estas. El índice de diversidad de Simpson mostró valores cercanos a 1; este índice es considerado un índice de dominancia, valores cercanos 1 indican una alta riqueza. Los índices de Simpson se encontraron en un rango de valores entre 0.95 y 0.97 (Tabla 1).

Los índices de diversidad beta comparan las diferencias entre dos o más comunidades, además de ser capaces de establecer diferencias entre comunidades basados en distancias filogenéticas como es el caso de Unifrac Ponderado.

En el análisis de diversidad beta empleando distancias de Bray-Curtis se muestra el agrupamiento de las muestras pertenecientes a los dos diferentes sistemas de manglar. En rojo y verde se observa el agrupamiento de las muestras pertenecientes a las estaciones 1 y 2 del manglar perturbado (P1 y P2), en sus dos profundidades, mientras en café y morado se observa el agrupamiento de las muestras pertenecientes a los 3 sitios conservados.

Tabla 1. Descriptores de diversidad alfa. Índices de Shannon-Weaver y Simpson obtenidos a partir de la caracterización de las comunidades microbianas en los dos sistemas de manglar. CO= Muestras del sistema de manglar conservado a 0-15cm, CA=Muestras del sistema de manglar conservado a 15-30cm PO= Muestras del sistema de manglar perturbado a 0-15cm, PA=Muestras del sistema de manglar perturbado a 15-30cm *Valores \pm Desviación estándar de 5 muestras. ND= No detectado.

Sitio	Shannon	Simpson
CA1	4.04 \pm 0.21	0.96 \pm 0
CO1	3.88 \pm 0.19	0.96 \pm 0.01
PA1	3.97 \pm 0.1	0.95 \pm 0
PO1	4.11 \pm 0.14	0.96 \pm 0
CA2	3.87 \pm 0.09	0.96 \pm 0
CO2	4.1 \pm 0.13	0.96 \pm 0
PA2	4.02 \pm 0.34	0.96 \pm 0.04
PO2	3.92 \pm 0.09	0.96 \pm 0
CA3	3.93 \pm 0.2	0.96 \pm 0.01
CO3	4.01 \pm 0.13	0.96 \pm 0
PA3	4.15 \pm 0.13	0.97 \pm 0
PO3	4.36 \pm 0.1	0.97 \pm 0

El análisis de beta diversidad basado en Unifrac (Fig. 6) ponderado se realiza con distancias filogenéticas y el conteo de las abundancias. Para este análisis el agrupamiento de muestras no es tan evidente como mostró distancias de Bray de Bray-Curtis, pero se sigue observando el agrupamiento de sitios conservados y perturbados, y como las muestras del sitio perturbado 3 (Grupo C y Grupo I) se agrupan lejos del resto.

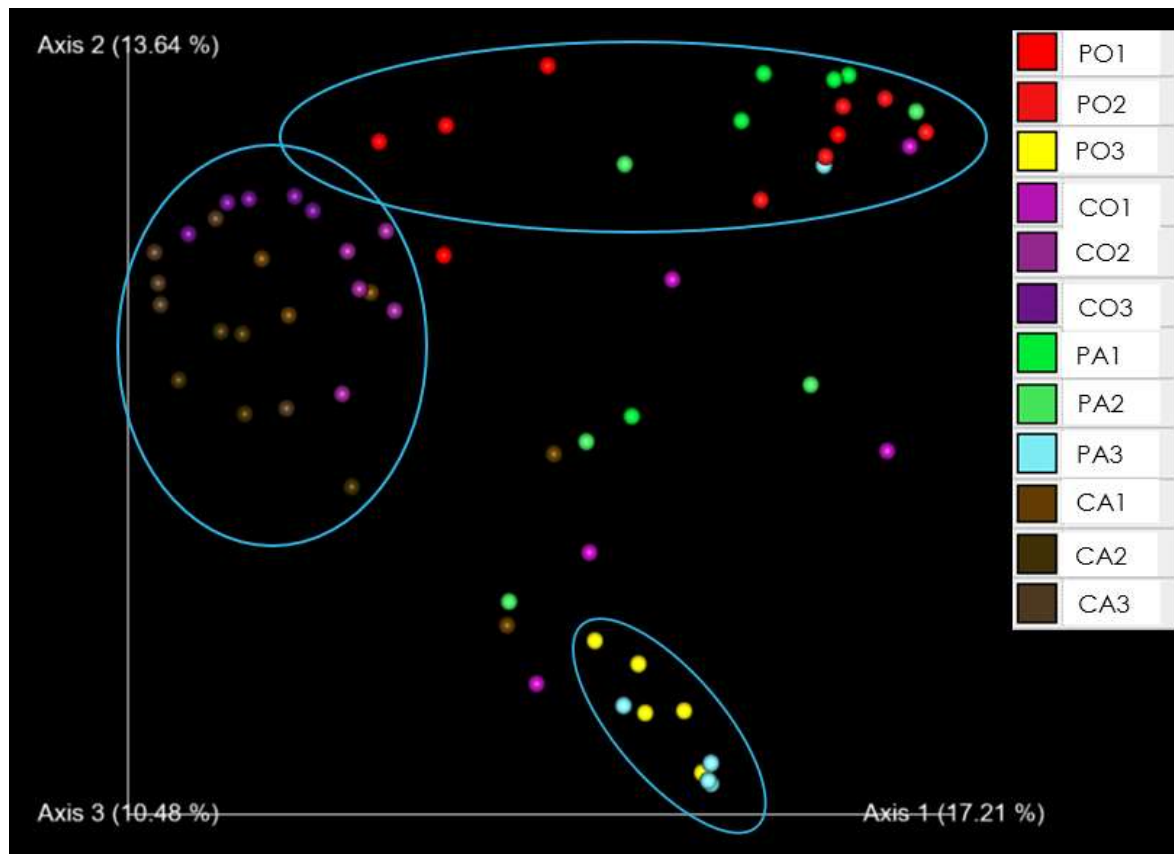


Figura 5. Ordenación por Coordenadas Principales mediante distancias de Bray-Curtis obtenidas a partir de la abundancia de secuencias V3-V4 del gen 16s ARNr en muestras de sedimento. En rojo y verde, muestras del sistema de manglar perturbado a 0-15 y 15-30 cm de profundidad. En morado y café, muestras del sistema de manglar conservado a 0-15 y 15-30 cm de profundidad. En Amarillo y celeste, muestras pertenecientes al sitio 3 del sistema de manglar perturbado

El análisis de ordenación basado en índices de Jaccard (Fig. 7) no toma en cuenta abundancias, por lo que calcula las distancias basadas en la composición presente en cada sitio, y los resultados obtenidos muestran consistencia en agrupamientos similares a los obtenidos por distancias de Bray-Curtis y Unifrac ponderado.

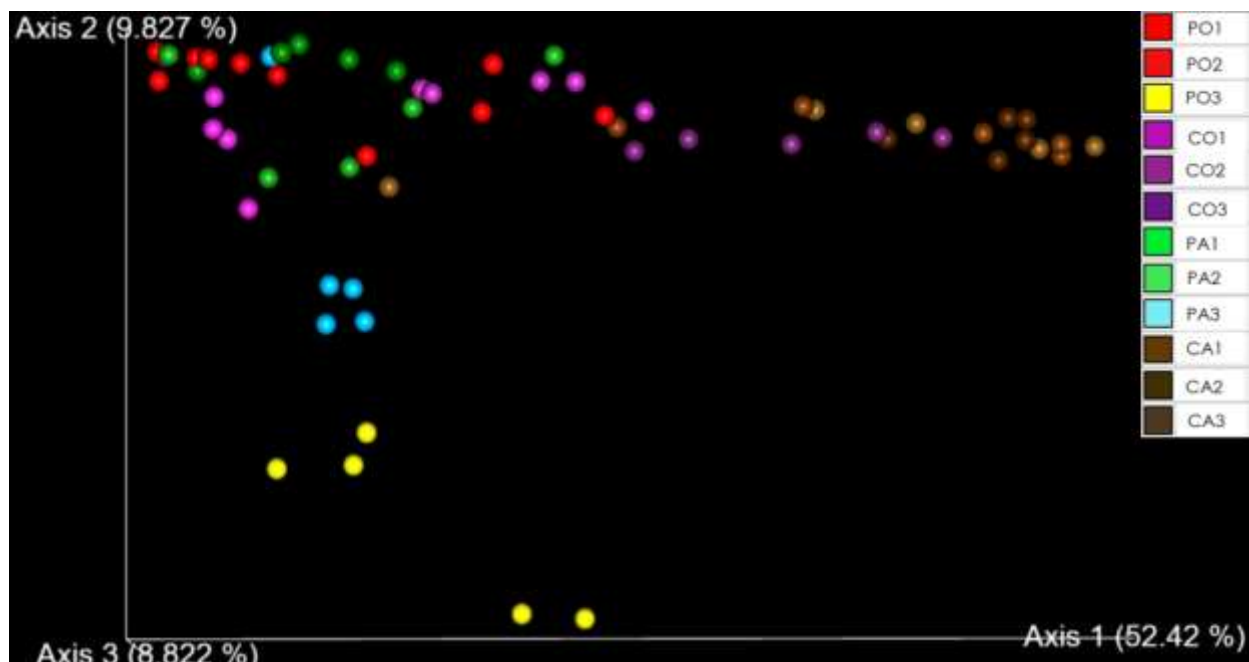


Figura 6. Ordenación por de Coordenadas Principales basado en la matriz de datos de Unifrac ponderado obtenida a partir de la secuenciación del gen 16s ARNr en muestras de sedimento. En rojo y verde, muestras del sistema de manglar perturbado a 0-15 y 15-30cm de profundidad. En morado y café, muestras del sistema de manglar conservado a 0-15 y 15-30cm de profundidad. En Amarillo y celeste, muestras pertenecientes al sitio 3 del sistema de manglar perturbado.

Los resultados obtenidos en los tres análisis de diversidad beta muestran que las comunidades microbianas varían mínimamente respecto a la profundidad de muestreo, que la disimilitud de las comunidades está relacionada mayormente con que el sitio más próximo a la perturbación (P3) presentó una composición diferente a la de sitios vecinos (P2 y P1) y a las del sistema de manglar conservado.

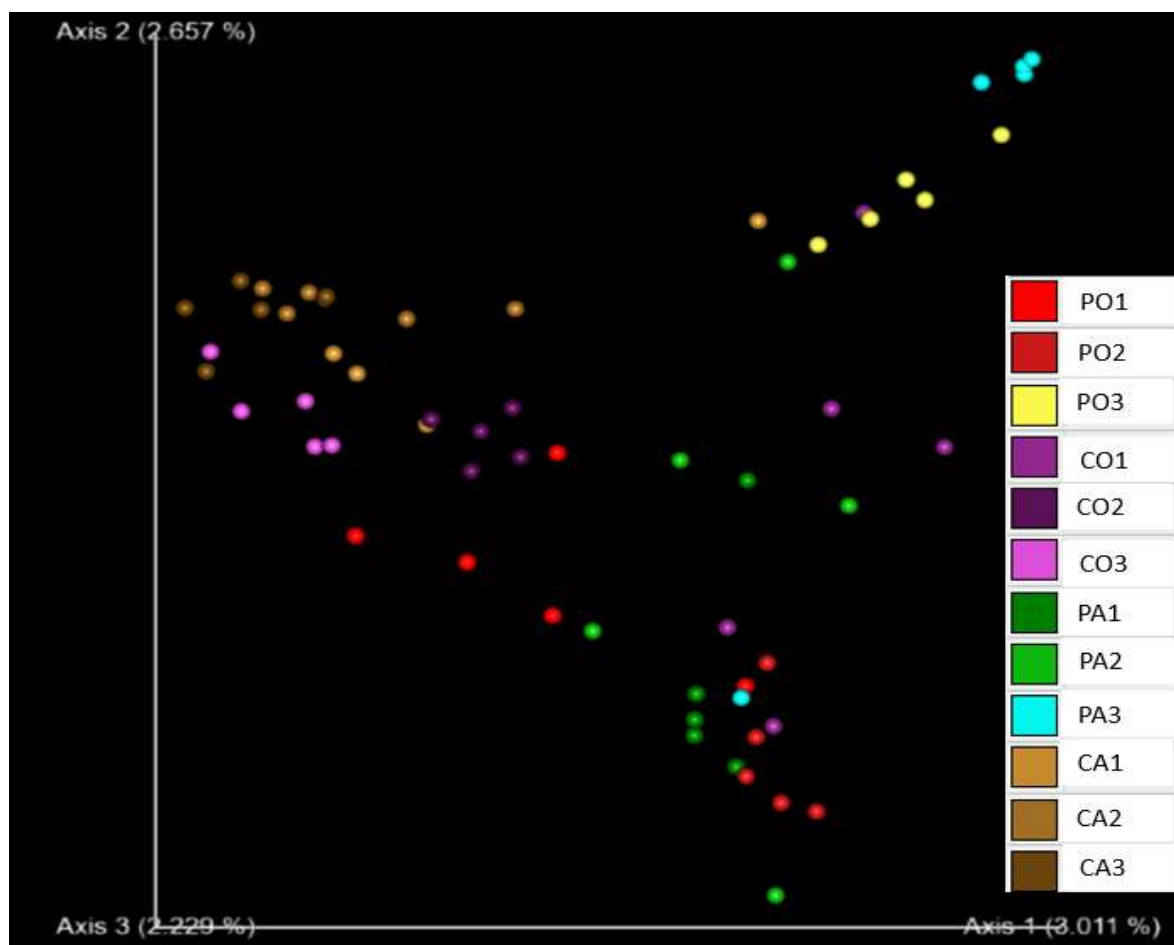


Figura 7. Ordenación por de Coordenadas Principales basado en la matriz de datos de presencia/ausencia de Jaccard obtenida a partir de la secuenciación del gen 16s ARNr en muestras de sedimento. En rojo y verde, muestras del sistema de manglar perturbado a 0-15 y 15-30cm de profundidad. En morado y café, muestras del sistema de manglar conservado a 0-15 y 15-30cm de profundidad. En Amarillo y celeste, muestras pertenecientes al sitio 3 del sistema de manglar perturbado.

7.3 Parámetros fisicoquímicos del agua intersticial.

En la siguiente sección se describe el comportamiento de las variables fisicoquímicas. Los parámetros fisicoquímicos medidos mostraron variación mínima, entre sitios y entre profundidades, con excepción del sitio P3, que presentaba diferencias marcadas en cobertura vegetal, presencia de materia orgánica y características de los sedimentos (Tabla 2).

Tabla 2. Promedio de los parámetros fisicoquímicos medidos para cada sitio a 0-15 y 15-30cm de profundidad. ND= No detectado. *Valores \pm Desviación estándar de 5 muestras.

Sitio	Temperatura (°C)	pH	ORP (mV)	CE (mS·cm ⁻¹)	TDS (ppm)	Salinidad (ppt)	Sulfuros (mg S ₂ ·l ⁻¹)
C1O	19.16 \pm 0.42	6.3 \pm 0.1	-178 \pm 22.4	56.2 \pm 0.72	65 \pm 1.16	40.4 \pm 0.89	3.2 \pm 4.01
C1A	19.7 \pm 0.31	6.3 \pm 0.1	-187 \pm 13.7	55.8 \pm 3.38	64 \pm 5.54	40.4 \pm 0.54	4.3 \pm 3.29
C2O	19.7 \pm 0.67	6.6 \pm 0.2	-162 \pm 34.2	55.1 \pm 0.92	62.6 \pm 1.54	40.4 \pm 0.54	.44 \pm 0.65
C2A	19.28 \pm 0.3	6.3 \pm 0.1	-194 \pm 18.3	56.6 \pm 0.81	65.6 \pm .84	42 \pm 1.22	6.3 \pm 1.67
C3O	18.02 \pm 0.26	6.2 \pm 0.1	-170 \pm 22.2	55.9 \pm 0.86	64.4 \pm 1.45	40 \pm 0	4.4 \pm 2.97
C3A	19.24 \pm 0.47	6.4 \pm 0.1	-215 \pm 24.6	57.3 \pm 0.88	66.4 \pm 1.42	40 \pm 0	10.1 \pm 4.83
P1O	20.6 \pm 0.68	6.9 \pm 0.2	118 \pm 48.9	65 \pm 6.29	68.7 \pm 10.84	39.2 \pm 1.09	ND
P1A	20.06 \pm 0.3	6.9 \pm 0.5	88 \pm 53.7	59.2 \pm 6.87	65 \pm 11.4	43.2 \pm 4.32	ND
P2O	19.02 \pm 0.58	6.7 \pm 0.1	76 \pm 33.2	57.5 \pm 0.4	66.6 \pm 0.57	40 \pm 0	ND
P2A	18.78 \pm 0.86	6.7 \pm 0.1	77 \pm 45.6	58.1 \pm 0.57	67.8 \pm 0.84	40 \pm 0	0.2 \pm 0.44
P3O	22.94 \pm 0.85	6.9 \pm 0.2	-133 \pm 61.7	92.3 \pm 2.18	133 \pm 4.11	67.2 \pm 4.2	0.31 \pm 0.71
P3A	21.82 \pm 0.47	6.9 \pm 0.1	-179 \pm 35.2	92.4 \pm 1.79	133.3 \pm 3.96	70.4 \pm 0.89	0.55 \pm 0.70

7.3.1 Temperatura

Los valores medidos se encontraron en un rango de 18 y 19.7°C para todas las muestras del sitio conservado, mientras las muestras del sitio perturbado se encontraron en un rango entre 18.7 y 22.9°C, siendo las muestras del sitio Perturbado 3 (P3) las que presentaron los valores más elevados 22.94 para la muestra P3O y 21.84 para la muestra P3A. Los valores en el sitio P3 son posiblemente explicados por la naturaleza de la perturbación a la que está sujeta directamente

este sitio, puesto que las plantas termoeléctricas generan efluentes de agua con temperatura y salinidad más elevada que la del agua de mar.

7.3.2 pH

Los valores de pH se encontraron en un rango de 6.2 y 6.6 en los sitios conservados y el rango de pH en los sitios perturbados fue ligeramente más alcalino, de 6.7 a 6.9. Los sedimentos de los sitios conservados presentaban mayor contenido de materia orgánica (aunque no se determinaron en este estudio), lo que explicaría un pH más ácido, debido a la producción de ácidos orgánicos al momento de llevarse a cabo la degradación de la materia orgánica.

7.3.3 ORP

Los valores de potencial óxido-reducción (ORP por sus siglas en inglés) fueron consistentes para todos los sitios del manglar conservado, presentando un rango de entre -215 y -162mV, todas las muestras presentaron valores negativos, propios de sistemas de manglar mayormente inundados. Las muestras del sistema perturbado presentaron valores positivos en las muestras de los sitios P1 y P2, con un rango entre 76 y 118mV, mientras las muestras del sitio P3 mostraron valores entre -179 y -133mV.

7.3.4 Salinidad

Los valores de salinidad en los sitios conservados se encontraron en un rango de 40-42ppt, sin embargo, las muestras de los sitios perturbados mostraron diferencias significativas. Los sitios P1 y P2 presentaron un rango de salinidad entre 39 y 43ppt. Las muestras del sitio P3 presentaron los valores de salinidad más altos para todas las muestras, 67 y 70ppt, para las muestras de los sitios P3O y P3A respectivamente. Estos altos valores posiblemente los explica el efluente que descarga en este sistema de manglar y que afecta primeramente a este sitio de muestreo.

7.3.5 CE

No hubo diferencias significativas en los valores de conductividad eléctrica en las muestras del sitio conservado, los valores rondaron entre 55 y 57 mS/cm. Los valores del sitio perturbado presentaron diferencias significativas para las muestras del sitio P3 en sus 2 estratos muestreados. Los valores de los sitios P1 y P2 se encontraron en un rango de 57 y 65 ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$), coincidiendo con los valores de los sitios conservados, por otro lado, las muestras del sitio P3 presentaron valores más elevados, 92.3 y 92.4 ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$).

7.3.6 SDT

Las mediciones de sólidos disueltos totales mostraron similitud entre sitios y entre profundidades en los sitios conservados, no se encontraron diferencias significativas entre estos, aunque las muestras del estrato anaerobio presentaron valores ligeramente superiores. Las mediciones de los sitios perturbados mostraron valores similares a los conservados en los sitios P1 y P2, con excepción del sitio P3, que presentó valores significativamente diferentes. El rango de SDT en los sitios conservados fue de 62.2 a 65.6ppm, los valores para los sitios P1 y P2 fue de 65 a 68.7ppm, mientras el sitio P3 duplicó los valores del resto de sitio con 133ppm.

7.3.7 Sulfuros

Las muestras que presentaron mayores concentraciones de sulfuros fueron las del manglar conservado, siendo el sitio C3A el que presentó valores más altos, con una media de 10. ($\text{mg S}_2\cdot\text{l}^{-1}$), el sitio C20 presentó las concentraciones más bajas con una media de 0.44 ($\text{mg S}_2\cdot\text{l}^{-1}$). La presencia de sulfuros en los sitios perturbados únicamente se detectó en una de las muestras del sitio P3O y en las muestras del P3A, con un valor promedio de 0.55 ($\text{mg S}_2\cdot\text{l}^{-1}$).

7.4 Análisis de correspondencias canónicas

En el análisis de correspondencias canónicas (CCA Fig. 8) se logra observar la correlación de las diferentes familias con los parámetros fisicoquímicos y a su vez los sitios a los que se asocian. En este análisis multivariable se ordenan los sitios de muestreo, los grupos bacterianos y en forma de vector las variables fisicoquímicas evaluadas, la longitud del vector indica el tamaño del efecto de dicho parámetro. La correlación entre vectores se puede interpretar observando ángulos que forman, ángulos agudos se consideran variables que correlacionan positivamente, ángulos obtusos se interpretan como correlación negativa.

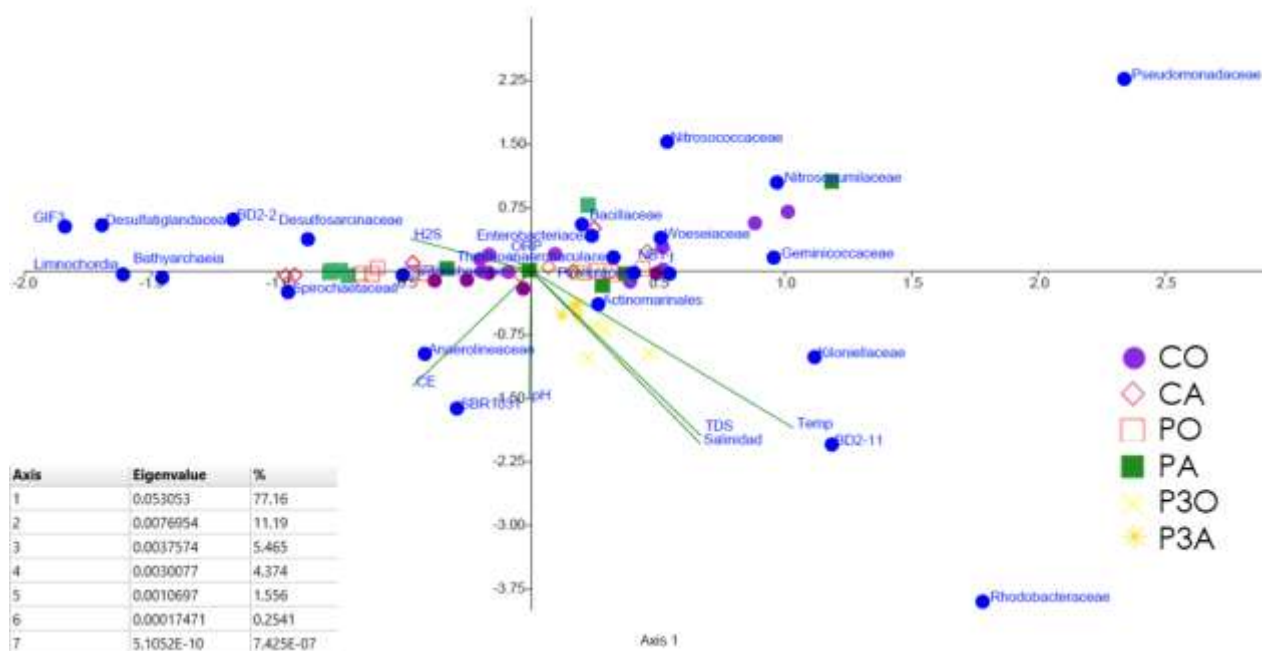


Figura 8. Análisis de correspondencias canónicas de bacterias y arqueas más representativas (abundancias mayores a 1%) a nivel familia y parámetros fisicoquímicos del agua intersticial. CO= Conservado a 0-15cm, CA= Conservado a 15-30cm, PO= Perturbado a 0-15cm, PA= Perturbado a 15-30cm, P3O= Sitio 3 Perturbado 0-15cm, P3A= Sitio 3 Perturbado 15-30cm

El análisis se realizó a nivel Familia debido a que a este nivel era más evidente la correlación de los diferentes grupos con los parámetros medidos.

Los vectores Temperatura, Salinidad, SDT y CE se encuentran estrechamente relacionados con la perturbación a la que está sujeta el sistema de manglar perturbado y correlacionaron positivamente con el sitio de mayor proximidad al efluente.

Las abundancias de familias que correlacionaron mayormente a los parámetros; temperatura (Temp), salinidad y sólidos disueltos totales (TDS), fueron Actinomarinales, BD2-11, *Kiloniellaceae* y *Rhodobacteraceae*, que corresponde a grupos de bacterias fotosintéticas, cuyas abundancias fueron superiores en el sitio perturbado 3 (P3). Además de los parámetros nombrados, CE también presentó valores superiores en el sitio P3, sólo que para este parámetro las familias que tuvieron correlación positiva fueron *Anaerolinaceae* y SBR1031, principalmente, además de *Spyrochaetaceae* y *Bathyarchaeia*, por otro lado, *Nitrosococcaceae*, *Nitrosopumilaceae* y *Pseudomonadaceae* correlacionaron negativamente con este parámetro. Para los parámetros concentración de sulfuros (H₂S) y en menor medida, potencial oxido reducción (ORP), las familias *Desulfosarcinaceae*, BD2-2, *Desulfatiglandaceae* y GIF-3 fueron los que mostraron mayor relación a la variación de estos parámetros. El pH no mostró un gradiente que se asociara a la abundancia de alguna familia en particular, con valores de 6.2 a 6.5 para el sistema conservado y de 6.7 a 6.9 para el sistema conservado, que presentó valores más elevados en el sitio P1 y P3. El vector de pH se muestra con un ángulo cerrado con respecto al eje de ordenación, lo que indica que es un parámetro de menor influencia que CE en el cuadrante y posiblemente una correlación no significativa con los grupos presentes en el cuadrante.

Las familias que mostraron menor variación de su abundancia con respecto a los cambios en los parámetros fisicoquímicos fueron las que se ordenaron en el centro del eje coordinado, donde encontramos a: *Bacillaceae*, *Enterobacteraceae*, *Woeseiaceae*, *Calditrichaceae*, NB1-j y *Thermoanaerobaculaceae*.

8. DISCUSIÓN

Los microorganismos juegan un papel fundamental en el reciclaje de nutrientes en los sistemas de manglar, que al ser pobres en nutrientes esenciales como nitrógeno y fosforo exigen una alta eficiencia en su inmovilización. Las comunidades bacterianas son consideradas las principales degradadoras de la materia orgánica, debido a su versatilidad en el uso de sustratos y a la hora de ocupar nichos en un amplio rango de condiciones, representan cerca del 90% de la biomasa microbiana en los sedimentos de manglar (Alongi, 1988) y por ello se les atribuye el protagonismo en el reciclaje de nutrientes.

Los métodos de secuenciación de nueva generación permiten conocer a gran parte de los involucrados en los ciclos de nutrientes. En el caso específico de manglares áridos de la Península de Baja California, el estudio de comunidades microbianas había sido abordado con otras aproximaciones de menor resolución, por lo cual los participantes en el reciclaje de nutrientes habían sido mínimamente explorados hasta el presente trabajo.

8.1 Estructura y composición de las comunidades microbianas

Los sistemas de manglar estudiados mostraron alta diversidad, al encontrarse 76 Phyla pertenecientes a los dominios de Bacteria y Archaea, esta alta diversidad se atribuye a que las comunidades microbianas en sedimentos de manglar están compuestas por microorganismos provenientes de suelos terrestres, marinos y cuerpos de agua dulce (Holguín *et al.*, 2001).

Las comunidades bacterianas encontradas en este estudio presentaron diferencias en su estructura entre sistemas (conservado vs perturbado) y dentro de los sitios dentro de cada sistema. los cambios más notorios se observaron en los tres Phyla más abundantes, en orden de abundancia: 1) Proteobacteria, 2) Chloroflexi y 3) Desulfobacterota. Los Phyla más abundantes mostraron un patrón de distribución por sistema. Chloroflexi y Desulfobacterota mostraron mayores abundancias en las muestras del sistema de manglar conservado, mientras Proteobacteria presentó mayores abundancias en las muestras del sistema perturbado. Estos resultados concuerdan con estudios realizados en manglares alrededor del mundo (Jiang *et al.*, 2013, Li *et al.*, 2019, Ullah *et al.*, 2017 en los que Proteobacteria es reportado como el Phylum más abundante lo cual puede ser explicado por su enorme diversidad a nivel fisiológico y

metabólico, además de ser el taxón que cuenta con el mayor número de especies descritas (Kerstens *et al.*, 2006). Este Phylum está involucrado en un gran número de funciones relacionadas con ciclos de carbono, nitrógeno y azufre y predominan en muestras de suelo terrestre y marino (Spain *et al.*, 2009). En estudios anteriores en manglares tropicales contaminados con metales pesados, Proteobacteria y Desulfobacterota han sido considerados indicadores de procesos de desintoxicación del ecosistema (Cabral *et al.*, 2016). Después de Proteobacteria, la dominancia de Phyla varía en los diferentes trabajos realizados alrededor del mundo empleando secuenciación del gen 16s ARNr. (Jiang *et al.*, 2013, Cithira *et al.*, 2021)

Woeseiaceae fue la familia más abundante de este Phylum, esta familia es conocida por su alta versatilidad metabólica, capaz de utilizar diversas fuentes de energía (carbono orgánico, sulfuros, hidrogeno, luz solar) y múltiples estrategias metabólicas (respiración aerobia, fermentación, desnitrificación, reducción de fumarato, entre otras) (Chen *et al.*, 2021). Otra familia predominante dentro del Phylum fue Kiloniellaceae, compuesta por quimioheterótrofos ligeramente halófilos, asociados a algas marinas, con una marcada diferencia en abundancias entre los dos sistemas de manglar, teniendo abundancias mayores en las muestras del manglar perturbado, en el que también se observó un incremento de grupos de organismo fotótrofos, por lo que el aumento en las abundancias de esta familia puede estar relacionada con la estrecha relación que se ha observado en algas marinas. Entre otras de las familias con altas abundancias se encontró a Nitrosococcaceae, con mayores abundancias en los sitios P1 y P2 del sistema de manglar perturbado en sus dos estratos, esta familia está involucrada en el ciclo del nitrógeno por su capacidad de realizar la oxidación anaerobia del amoníaco. Algunas muestras (P2A-5, C3A-3) presentaron abundancias extraordinariamente altas de Pseudomonadaceae, familia de alta importancia ecológica por su capacidad de solubilización de fosfatos, (aunque extremadamente heterogénea, con una alta versatilidad en el uso de fuentes de carbono y cuenta con representantes capaces de realizar fijación de nitrógeno y desnitrificación), que en general presentó bajas abundancias en el resto de las muestras para ambos sistemas.

En este trabajo Chloroflexi fue el segundo Phylum más abundante, que al igual que Proteobacteria es sumamente heterogéneo. Es considerado un Phylum escasamente estudiado, con pocos datos sobre su importancia fisiológica y ecológica. Las mayores abundancias de este

Phylum pertenecieron al subphylum I (Anaerolineae/Caldilineae) y II (Dehalococcoidia), dichos subphylum, se cree juegan un papel principal en la degradación de proteínas, aminoácidos y ácidos grasos en sedimentos marinos (Craud *et al.*, 2015). Su función se atribuye principalmente al ciclo del carbono y del azufre. Los pertenecientes al subphylum I, se encargan de la degradación inicial de materia orgánica rica en carbohidratos, mientras los miembros del subphylum II, se encargan de la degradación de productos secundarios de la fermentación, como proteínas y acetato (Suominen *et al.*, 2021). Las familias pertenecientes a Chloroflexi con abundancia mayor al 5% están representadas por Anaerolinaceae SRB1031 y GIF-3, con mayor abundancia en las muestras del sistema de manglar conservado, exceptuando las muestras del sitio CO1.

Desulfobacterota ocupó el tercer lugar en abundancias de ASVs. Este Phylum es conocido por incluir organismos capaces de realizar la reducción de compuestos del azufre, sin embargo, con el uso de técnicas metagenómicas se ha descrito su potencial para degradar hidrocarburos, participar en el ciclo del hidrógeno, producir metilmercurio y llevar a cabo deshalogenación reductiva (Langwig *et al.*, 2020), jugando un papel esencial en los ciclos del carbono, del azufre y en el reciclaje de diversos nutrientes. Las abundancias de este Phylum fueron mayores las muestras del sistema de manglar conservado, dicho sistema presentó niveles de POR negativos, propicios para la proliferación este Phylum. Los descensos en el potencial redox están relacionados con la proliferación de BSR (Bussman & Reichard, 1991). Desulfosarcinaceae y Desulfatiglandaceae resultaron las familias más abundantes, ambas con mayor distribución en el sistema de manglar conservado. Las BSR son de alta importancia ecológica en sistemas que presentan condiciones anaerobias, a nivel global son el segundo proceso respiratorio de mayor importancia en la descomposición de la materia orgánica en sistemas de manglar, sólo por detrás de la respiración aerobia (Kristensen *et al.*, 2008). La disminución de BSR en el sistema de manglar perturbado pudiese estar relacionada con el agotamiento de materia orgánica en los sedimentos y el bajo o nulo aporte de esta misma a causa de la muerte de la vegetación.

Planctomycetota fue el siguiente phylum más abundante, representativo del proceso anammox. La distribución de este Phylum fue homogénea entre las muestras de los dos sistemas de manglar. La familia predominante correspondió a Pirelullaceae. Estudios previos en sedimentos

estuarinos (Dale *et al.*, 2009) indican que el aumento en la salinidad propicia la proliferación de planctomycetos y que en sedimentos de manglar (Li *et al.*, 2011) al aumentar la profundidad de muestreo, aumenta la abundancia de bacterias anammox mostrando correlación positiva con el potencial redox, sin embargo, en este estudio no se observó dicho comportamiento.

Contrario a lo esperado, la distribución del Phylum Acidobacteriota mostró una distribución homogénea, sin que sus abundancias hayan aumentado en el sistema de manglar con valor más bajo de pH. Este Phylum comprende organismos fisiológicamente diversos, involucrados en el ciclo del carbono y del nitrógeno, se reporta sensibles a cambios en la concentración de nutrientes y pH del medio, y con alta versatilidad en el uso de fuentes de carbono (Kielak *et al.*, 2016). La familia mejor representada fue Thermoanaerobaculaceae, que está descrita como termófila y neutrófila, sin embargo, no se observaron cambios en las abundancias relacionadas con los cambios en la temperatura o pH del agua intersticial.

Otros grupos bien representados fueron NB1-j (0.3%-5.41%) y Gemmatimonadota, ambos grupos con abundancias similares, mayores en las muestras del sistema de manglar perturbado. El primero es un phylum sin representantes cultivados, sulfato reductor, que anteriormente pertenecía a Deltaproteobacteria y que mediante reconstrucción de metagenomas se ha inferido su capacidad desnitrificante. Por su parte, Gemmatimonadota fue particularmente abundante en las muestras del sitio P3. DeBruyn *et al.*, (2011) reportó que la abundancia de este Phylum correlacionaba inversamente con la humedad del suelo y Drees *et al.*, (2006) reportó predominancia de este Phylum en suelos hiper áridos, lo que hace sentido al hecho de que se encuentran bien representados en los sedimentos de manglar estudiados.

Actinobacterota presentó abundancias de 0.81% hasta 8.07%, con mayor presencia en muestras del sistema de manglar perturbado. Este Phylum es conocido por su potencial en la producción de metabolitos secundarios, además de tener un papel fundamental en ciclos biogeoquímicos. El orden Actinomarinales, que corresponde a Actinobacterias aerobias fotoheterótrofas exclusivas de ambientes acuáticos, que a pesar de ser organismos aerobios estuvo bien representado en muestras tomados a 15-30cm de profundidad, posiblemente sustentadas por microorganismos fotosintéticos oxigénicos y por transporte de oxígeno del manglar de sus partes aéreas hacia las raíces.

Firmicutes, presentó abundancias de 0.01 a 9.8% y fue de los phyla con mayor abundancia en muestras del sistema de manglar conservado. De Santana *et al.*, (2021) sugieren a Firmicutes como un indicador de manglares prístinos, puesto que correlaciona negativamente con Gammaproteobacteria que fue propuesto como bioindicador de manglares perturbados por aguas residuales domésticas, aunque también se han encontrado altas abundancias de Firmicutes en sistemas impactados por actividad antropogénica (Torres *et al.*, 2019, Haldar y Nazareth, 2018) y por lo tanto habría que evaluarse a escala local a los potenciales Phyla indicadores de perturbación.

Entre los phyla con abundancias mayores a 5%, se encontraron dos del dominio Archaea, representados por Crenarchaeota (0.59%-7.2%) y Thermoplasmatota (0.01%-5.65%), ambos phyla con mayor abundancia en las muestras del sistema de manglar conservado. Crenarchaeota contiene a organismos quimolitoheterótrofos, acidófilos, hipertermófilos y con la capacidad de oxidar y reducir azufre. Se ha relacionado con las bacterias sulfato reductoras por establecer relaciones simbióticas al generar metabolitos que son empleados por estas, específicamente sulfuros. Por otro lado, Thermoplasmatota es considerado de alta importancia ecológica por incluir organismos metanógenos.

Las comparaciones con otros trabajos sobre comunidades microbianas en sedimentos de manglar sujetos a perturbación se dificultan por el tipo de perturbación al que está sujeto el sistema de manglar del presente estudio. Sin embargo, se detectaron grupos que indican cambios en ciclos biogeoquímicos, como la reducción de grupos relacionados con el ciclo del nitrógeno, azufre y del carbono, reflejado en la disminución de bacterias anammox, BSR y arqueas metanótrofas. Estudios recientes han planteado grupos candidatos para evaluar el estado de conservación de manglares (de Santana *et al.*, 2021), no obstante, estos son difícilmente extrapolables a sistemas de manglar con características edáficas, climáticas o hidrológicas distintas.

8.2 Diversidad bacteriana en sedimentos

A la fecha existen trabajos alrededor del mundo sobre diversidad bacteriana en manglares empleando técnicas de secuenciación de nueva generación, que nos han permitido tener una

mejor idea del ensamble de comunidades y sus funciones. Sin embargo, de los manglares áridos de la península de Baja California, que presentan condiciones ambientales particulares, la diversidad bacteriana ha sido mínimamente explorada.

Los índices de diversidad encontrados en este trabajo nos hablan de una comunidad sumamente compleja. A nivel familia, gran proporción se presentó en muy pequeñas abundancias que corresponden organismos denominados 'biosferas raras', que llevan ese nombre debido a su baja abundancia. Las biosferas raras son un componente sumamente relevante y representan la mayor proporción de la diversidad en las comunidades (Locey & Lennon 2016) y se definen como aquellos organismos que se encuentran en abundancias entre 0.01 y 0.1% (Galand *et al.*, 2009), que, aunque escasos, llevan a cabo funciones clave dentro del ecosistema, como fijación de carbono, nitrificación, metanotrofia y metilotrofia, así como aquellos capaces de degradar compuestos químicos específicos (Lynch *et al.*, 2015). En este trabajo, a nivel familia, de las 596 asignadas, únicamente 15 presentaron abundancias mayores al 5%, encontrando una gran proporción de grupos que entran en la definición de biosfera rara. Las biosferas raras constituyen un reservorio de genético y funcional, que dan lugar a propiedades emergentes, como la resiliencia y servicios ecosistémicos. Según la hipótesis planteada por Yachi & Loreau (1999), a mayor diversidad, mayor la probabilidad de que un ecosistema sea resiliente a un evento de perturbación y se le atribuye al aumento de la redundancia funcional.

Los índices de diversidad alfa encontrados mostraron alta diversidad para ambos sistemas de manglar. Los índices de Chao y Simpson mostraron que el sitio de muestreo con mayor riqueza y diversidad, inesperadamente, fue el sitio sujeto a mayor perturbación (P3). Este sitio es el que se encuentra mayormente impactado por la descarga del efluente de la planta termoeléctrica y muestra pérdida de cobertura vegetal. La diversidad de este sitio podría ser explicada por contener poblaciones bacterianas de antes de la perturbación y nuevas poblaciones que llegaron a ocupar el nicho resultante de la perturbación.

Para el análisis de diversidad beta, utilizando Distancias de Bray-Curtis, se observó un ordenamiento que separa a los dos sitios y que las muestras del sitio 3 del manglar perturbado, presenta una comunidad marcadamente distinta del resto de los sitios muestreados. Esto

sugiere que las condiciones impuestas por la perturbación sirven de nicho a grupos microbianos poco representados o ausentes en las muestras tomadas de otros sitios. No se observaron diferencias entre la diversidad de muestras tomadas a diferentes profundidades al emplear esta métrica.

También se analizó la diversidad beta empleando el índice de Jaccard, que calcula la distancia entre las muestras basado en presencia/ausencia de grupos. El ordenamiento resultante obtenido con esta métrica fue consistente al obtenido con Distancias de Bray-Curtis y UniFrac. Se observó que las muestras del sitio P3 en sus 2 estratos muestreados forman un grupo distante del resto. Por otro lado, el ordenamiento mediante UniFrac ponderado, el cual se basa en similitud filogenética entre las muestras y toma en cuenta las abundancias, indicó que las muestras más distantes filogenéticamente pertenecieron al sitio P3.

Estos resultados sugieren que las diferencias en las métricas de diversidad de los sitios no sólo están dadas por las abundancias de los grupos presentes, sino por poseer una composición distinta. Los cambios en la composición se atribuyen a los cambios en el ambiente, inducidos por el efluente proveniente de la planta termoeléctrica. La marcada distancia del sitio P3 del resto de sitios, es explicada por la evidente diferencia en la condición del sitio de muestro, distinta del resto. Estas diferencias se reflejaron en algunos de los parámetros fisicoquímicos analizados en el agua intersticial.

8.3 Relación entre estructura de comunidades bacterianas y parámetros fisicoquímicos

La determinación de factores ambientales es un componente clave al realizar estudios de comunidades microbianas, debido a que las condiciones en el ambiente ejercen presión de selección sobre las comunidades. El análisis de estos factores nos permite tener un mejor entendimiento sobre procesos llevados a cabo en el ecosistema y sobre el potencial metabólico de los organismos que habitan determinado nicho.

En este trabajo se abordó la relación entre las propiedades fisicoquímicas del agua intersticial con la estructura de las comunidades microbianas mediante la secuenciación de amplicones del gen marcador 16s ARNr mediante un (CCA).

Los parámetros fisicoquímicos de mayor influencia se encontraron asociados a las muestras del sitio P3 en sus 2 estratos y corresponden a Temperatura, SDT y Salinidad. Las variaciones de estos parámetros se encuentran estrechamente relacionadas con la fuente de perturbación. Los grupos bacterianos que correlacionaron positivamente a estos parámetros fueron organismos fotótrofos como Actinomarinales y los pertenecientes al grupo 2 de Gemmatimonadetes, grupos que recién se empieza a conocer con el ensamble de metagenomas (Lopez-Perez, *et al.*, 2020), además de Rhodobacteracea, una familia bastante diversa que comprende organismos tanto foto, como quimioheterótrofos y bacterias purpuras no sulfurosas (Pujalte *et al.*, 2014). La abundancia de estos pudiese explicarse debido a la pérdida de cobertura vegetal, que favorece la disponibilidad de luz para estos microorganismos. En el caso de Cyanobacteria, este Phylum mostró el mismo comportamiento, sin embargo, sus abundancias correlacionaron debilmente con estos parámetros. Estos al ser grupos aerobios, su proliferación se ve favorecida en sedimentos con ORP positivos, en el caso del sitio P3, a pesar de presentar sedimentos reducidos, la abundancia de aerobios no disminuyó y en algunos casos fue mayor a la de sedimentos oxidados. En un ambiente en el que disminuyen los aportes de carbono producto de la pérdida de vegetación, el papel de los productores primarios es fundamental para el sostenimiento de las redes tróficas en los sedimentos.

La abundancia de degradadores de sustratos complejos (Anaerolineales) correlacionó positivamente con el parámetro CE, mientras grupos relacionados con el ciclo del nitrógeno (Nitrosococcaceae, Nitrosopumilaceae y Pseudomonadaceae) correlacionaron negativamente con este parámetro, presentandose en el cuadrante inverso al que se ordenó el parámetro CE. Tanto SBR1031 como Anaerolinaceae, presentaron una distribución uniforme en ambos sistemas, incluyendo el sitio P3 que presenta una considerable reducción en el contenido de materia orgánica y un aumento de casi el doble en el valor de conductividad.

Finalmente, aquellos que presentaron correlación positiva a Sulfuros y ORP, fueron grupos de bacterias sulfato reductoras (Desulfatiglandaceae y Desulfosarcinaceae) deshalogenadoras y bacterias estrechamente ligadas a procesos de metanotrofia y sulfato reducción (Dehalococcoideae y GIF3). Dichos grupos mostraron mayores abundancias en las muestras del sistema de manglar conservado, que presentaron mayor concentración de sulfuros, sin mostrar

un patrón respecto a la profundidad. Los grupos pertenecientes a la clase Dehalococcoides son conocidos por su capacidad biorremediadora en diversos ambientes (Pan *et al.*, 2016, Taş *et al.*, 2009). La disminución de estos grupos en los sitios perturbados bien puede traducirse en una menor capacidad de eliminación de contaminantes, reduciendo las propiedades emergentes del ecosistema.

9. CONCLUSIONES

El análisis de comunidades microbianas reveló que las comunidades pertenecientes al sitio P3, que recibe primeramente la descarga de la planta termoeléctrica presentan una estructura de comunidades diferente a las del sistema de manglar conservado y a la de los sitios P1 y P2 del sistema de manglar perturbado. La secuenciación de amplicones del gen 16S ARNr, de la mano de las mediciones de parámetros fisicoquímicos permitió observar diferencias en los patrones de distribución de las comunidades entre los dos sitios, cuáles son los parámetros que mayormente afectan la abundancia de diferentes grupos y que las comunidades del sitio sujeto a mayor perturbación térmico-salina son diferentes a la del resto de los sitios. A su vez nos permitió comprender potenciales procesos favorecidos y afectados por cambios en el ambiente, reflejados en el aumento o disminución de diferentes taxa, tales cambios en la estructura de las comunidades son un potencial indicador de estado de conservación del sistema

El presente trabajo es el primero empleando la aproximación de secuenciación de amplicones del gen 16s ARNr en sedimentos de manglar del país y contribuye al conocimiento global de las comunidades microbianas de sedimentos de manglares de zonas áridas, destacando la complejidad de las altamente diversas comunidades microbianas y los cambios en la estructura de las comunidades producto de la perturbación causada por el efluente de la planta termoeléctrica, además del elevado porcentaje de 'biosferas raras' que son grupos taxonómicos poco abundantes y cuya funcionalidad ha sido mínimamente explorada.

Los resultados obtenidos en este estudio sirven de línea base para futuros trabajos en comunidades microbianas de sedimentos de manglar y abonan en la búsqueda de indicadores de estado de conservación en los manglares de la región. Muestreos estacionales, un mayor número de parámetros medidos, y el uso de técnicas de mayor resolución funcional, como metagenómica, ampliarán la comprensión, de los procesos bióticos y abióticos, su dinámica, interacciones y permitirá generar estrategias de conservación o restauración en las que se integre el conocimiento generado sobre las comunidades microbianas, como puede ser la aplicación de consorcios microbianos en manglares reforestados.

10. LITERATURA CITADA

- Acosta–Velázquez, J., Ruíz–Luna, A. (2007). Variación en la cobertura, distribución y estructura de los manglares del complejo lagunar Bahía Magdalena–Bahía Almejas (1990-2005). En: Funes-Rodríguez, R.; J. Gómez-Gutiérrez; R. Palomares-García. Estudios Ecológicos en Bahía Magdalena. CICIMAR-IPN, La Paz, Baja California Sur, México, p 127-141
- Adame, M.F., Roberts, M.E., Hamilton, D.P., Ndehedehe, C.E., Reis, V., Lu, J., ... Ronan, M. (2019). Tropical Coastal Wetlands Ameliorate Nitrogen Export During Floods. *Frontiers in Marine Science*, 6. doi:10.3389/fmars.2019.00671
- Adame, M.F., Reef, R., Santini, N.S., Najera, E., Turschwell, M.P., Hayes, M.A., ... Lovelock, C.E. (2020). Mangroves in arid regions: Ecology, threats, and opportunities. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 106796. doi:10.1016/j.ecss.2020.106796
- Alongi, D. M. (1994). The role of bacteria in nutrient recycling in tropical mangrove and other coastal benthic ecosystems. *Ecology and Conservation of Southeast Asian Marine and Freshwater Environments Including Wetlands*, 19–32. doi:10.1007/978-94-011-0958-1_3
- Alongi, D.M. (1988). Bacterial productivity and microbial biomass in tropical mangrove sediments. *Microbial Ecology*, 15(1), 59–79. doi:10.1007/bf02012952
- Alongi, D. M., Christoffersen, P., & Tirendi, F. (1993). The influence of forest type on microbial-nutrient relationships in tropical mangrove sediments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 171(2), 201–223. doi:10.1016/0022-0981(93)90004-8
- Alzubaidy, H., Essack, M., Malas, T. B., Bokhari, A., Motwalli, O., Kamanu, F. K., ... Archer, J. A. C. (2016). Rhizosphere microbiome metagenomics of gray mangroves (*Avicennia marina*) in the Red Sea. *Gene*, 576(2), 626–636. doi:10.1016/j.gene.2015.10.032
- Azam, F., Malfatti, F. (2007). Microbial structuring of marine ecosystems. *Nature Reviews Microbiology* 5, 782–791. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1747>
- Bashan, Y., Puente, M. E., Myrold, D. D., Toledo, G. (1998). In vitro transfer of fixed nitrogen from diazotrophic filamentous cyanobacteria to black mangrove seedlings. *FEMS Microbiology Ecology* 26, 165–170. doi:10.1111/j.1574-6941.1998.tb00502.x
- Basak, P., Pramanik, A., Roy, R., Chattopadhyay, D., Bhattacharyya, M. (2015). Cataloguing the bacterial diversity of the Sundarbans mangrove, India in the light of metagenomics. *Genomics Data*, 4, 90–92. doi:10.1016/j.gdata.2015.03.014
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., ... Asnicar, F. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*. doi:10.1038/s41587-019-0209-9
- Boto, K., Robertson, I. (1990). The relationship between nitrogen fixation and Tidal exports of nitrogen in a tropical mangrove system. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 31, 531–540. doi:10.1016/0272-7714(90)90011-F
- Bussmann, I., Reichardt, W.T. (1991). Sulfate-reducing bacteria in temporarily oxic sediments with bivalves. *Marine Ecology Progress Series* 78, 97-102. doi:10.3354/meps078097
- Cabral, L., Júnior, G.V.L., Pereira de Sousa, S.T., Dias, A.C.F., Lira Cadete, L., Andreote, F. D., ... de Oliveira, V. M. (2016). Anthropogenic impact on mangrove sediments triggers differential responses in the heavy metals and antibiotic resistomes of microbial communities. *Environmental Pollution*, 216, 460–469. doi:10.1016/j.envpol.2016.05.078

- Chávez-Rosales, S. (2006). El papel de los manglares en la producción de comunidades acuáticas de Bahía Magdalena, B.C.S. Tesis Doctorado, Instituto Politecnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, Baja California Sur, Mexico, 127 pp.
- Chen, Y.J., Leung, P.M., Wood, J.L., Bay, S.K., Hugenholtz, P., Kessler, A.J. (2021). Metabolic flexibility allows bacterial habitat generalists to become dominant in a frequently disturbed ecosystem. *ISME Journal* <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00988-w>.
- Chiu, C.-Y., Lee, S.-C., Chen, T.-H., Tian, G. (2004). Denitrification associated N loss in mangrove soil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 69(3), 185–189. doi:10.1023/b:fres.0000035170.46218.92
- Chithira, M.S., Aishwarya, P.V., Mohan, A.S. (2021). Metagenomic analysis of microbial communities in the sediments of a semi-intensive penaeid shrimp culture system. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 19, 136. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00237-9>
- Cruaud, P., Vigneron, A., Pignet, P., Caprais, J.-C., Lesongeur, F., Toffin, L. Cambon-Bonavita, M.-A. (2015). Microbial communities associated with benthic faunal assemblages at cold seep sediments of the Sonora Margin, Guaymas Basin. *Frontiers in Marine Science*, 2. doi:10.3389/fmars.2015.00053
- Dale, O.R., Tobias, C.R., Song, B. (2009). Biogeographical distribution of diverse anaerobic ammonium oxidizing (anammox) bacteria in Cape Fear River Estuary. *Environmental Microbiology*, 11(5), 1194–1207. doi:10.1111/j.1462-2920.2008.01850.x
- DeBruyn, J.M., Nixon, L.T., Fawaz, M.N., Johnson, A.M., Radosevich, M. (2011). Global biogeography and quantitative seasonal dynamics of Gemmatimonadetes in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(17), 6295–6300. doi:10.1128/aem.05005-11
- De Santana, C.O., Spealman, P., Melo, V. (2021). Large-scale differences in diversity and functional adaptations of prokaryotic communities from conserved and anthropogenically impacted mangrove sediments in a tropical estuary. *Peer Journal* doi:10.7717/peerj.12229
- Drees, K.P., Neilson, J.W., Betancourt, J.L., Quade, J., Henderson, D.A., Pryor, B.M., Maier, R.M. (2006). Bacterial community structure in the hyperarid core of the Atacama Desert, Chile. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12), 7902–7908. doi:10.1128/aem.01305-06
- Fernandes, S.O., Bonin, P.C., Michotey, V.D., Garcia, N., LokaBharathi, P.A. (2012). Nitrogen-limited mangrove ecosystems conserve N through dissimilatory nitrate reduction to ammonium. *Scientific Reports*, 2(1). doi:10.1038/srep00419
- Feng, S., Lin, X., Tong, Y., Huang, X., Yang, H. (2018). Biodesulfurization of sulfide wastewater for elemental sulfur recovery by isolated *Halothiobacillus neapolitanus* in an internal airlift loop reactor. *Bioresource Technology*, 264, 244–252. doi:10.1016/j.biortech.2018.05.07
- Flores-Mireles, A.L., Winans, S.C., Holguin, G. (2007). Molecular characterization of diazotrophic and denitrifying bacteria associated with mangrove roots. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(22), 7308–7321. doi:10.1128/aem.01892-06
- Galand, P.E., Casamayor, E.O., Kirchman, D.L., Lovejoy, C. (2009). Ecology of the rare microbial biosphere of the Arctic Ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(52), 22427–22432. doi:10.1073/pnas.0908284106
- Ghiglione, J.-F., Gourbiere, F., Potier, P., Philippot, L., Lensi, R. (2000). Role of respiratory nitrate reductase in ability of *Pseudomonas fluorescens* YT101 to colonize the rhizosphere of maize. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(9), 4012–4016. doi:10.1128/aem.66.9.4012-4016.2000

- Glick, B.R., Patten, C.L., Holguin, G., Penrose, D.M. (1999) Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria. Imperial College Press, London. doi:10.1142/p130
- Goldstein, A.H. (1995). Recent progress in understanding the molecular genetics and biochemistry of calcium phosphate solubilization by gram negative bacteria. *Biological Agriculture & Horticulture*, 12(2), 185–193. doi:10.1080/01448765.1995.975473
- González, B. (2006). Caracterización de comunidades bacterianas en sedimentos marinos [Tesis de Doctorado]. Repositorio institucional -Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.
- Gotto, J.W., Taylor, B.F. (1976). N₂ fixation associated with decaying leaves of the red mangrove (*Rhizophora mangle*). *Applied and Environmental Microbiology* 31(5):781-783. doi:10.1128/aem.31.5.781-783.1976
- Haldar, S., Nazareth, S.W. (2018). Taxonomic diversity of bacteria from mangrove sediments of Goa: metagenomic and functional analysis. *3 Biotech* 8(10). doi:10.1007/s13205-018-1441-6
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. (2001). PAST: Paleontological Statics software package for education and data analysis. *Paleontología Electrónica* 4(1): 9 pp.
- Hariprasad, P., Niranjana, S.R. (2008). Isolation and characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve plant health of tomato. *Plant and Soil* 316(1-2), 13–24. doi:10.1007/s11104-008-9754-6
- Hedrick D.B., Peacock A.D., White D.C. (2007). Lipid analyses for variable microbial biomass, community composition, metabolic status, and in situ metabolism. En: Hurst, C.J. (ed), *Manual of Environmental Microbiology* (3rd edition), pp. 112-125. American Society Microbiology Press. doi: 10.1097/01.shk.0000286263.09575.87
- Holguin, G., Guzman, M.A., Bashan, Y. (1992). Two new nitrogen-fixing bacteria from the rhizosphere of mangrove trees: their isolation, identification and in vitro interaction with rhizosphere *Staphylococcus* sp. *FEMS Microbiology Ecology* 101, 207–216. doi:10.1016/0168-6496(92)90037-T
- Holguin, G., Vazquez, P., 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. doi:10.1007/s003740000319
- Jiang, C.Y., Sheng, X.F., Qian, M., Wang, Q.Y. (2008). Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil. *Chemosphere* 72(2):157-164. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.02.006
- Jiang, X.-T., Peng, X., Deng, G.-H., Sheng, H.-F., Wang, Y., Zhou, H.-W., & Tam, N. F.-Y. (2013). Illumina Sequencing of 16S rRNA Tag Revealed Spatial Variations of Bacterial Communities in a Mangrove Wetland. *Microbial Ecology*, 66(1), 96–104. doi:10.1007/s00248-013-0238-8
- Kerstens, K., De Vos, P., Gillis, M., Swings, J., Vandamme, P., Stackebrandt, E. (2006) Introduction to the Proteobacteria. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., Stackebrandt, E. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, New York, NY., pp 3–37. doi:10.1007/0-387-30745-1_1
- Kielak, A. M., Barreto, C. C., Kowalchuk, G. A., van Veen, J. A., & Kuramae, E. E. (2016). The ecology of Acidobacteria: moving beyond genes and genomes. *Frontiers in Microbiology*, 7. doi:10.3389/fmicb.2016.00744
- Konopka, A. (2009). What is microbial community ecology? *The ISME Journal* 3, 1223–1230 <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.88>

- Kristensen, E., Bouillon, S., Dittmar, T., Marchand, C. (2008). Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: A review. *Aquatic Botany* 89(2), 201–219. doi: 10.1016/j.aquabot.2007.12.005
- Kristensen, E., Holmer, M., Bussarawit, N. (1991). Benthic metabolism and sulfate reduction in a southeast Asian mangrove swamp. *Marine Ecology Progress Series* 93-103. doi:10.3354/meps073093
- Langwig, M.V., De Anda, V., Dombrowski, N., Seitz, K.W., Rambo, I.M., Greening, C., ... Baker, B. J. (2021). Large-scale protein level comparison of Deltaproteobacteria reveals cohesive metabolic groups. *The ISME Journal*. doi:10.1038/s41396-021-01057-y
- Lee, S.Y. (2004). Relationship between mangrove abundance and tropical prawn production: a re-evaluation. *Marine Biology* 145, 943-949. doi: 10.1007/s00227-004-1385-8
- Levin, S.A. (1999). Towards a science of ecological management. *Conservation Ecology* 3(2): 6.
- Levins, R, Lewontin, R.C. (1985). Dialectics and reduction in ecology. In: Levins, R., Lewontin R.C., (eds). *The Dialectical Biologist*. Harvard University Press: Cambridge, pp 132–160 doi:10.1007/bf00413856
- Li, M., Hong, Y.-G., Cao, H.-L., Gu, J.-D. (2011). Mangrove trees affect the community structure and distribution of anammox bacteria at an anthropogenic-polluted mangrove in the Pearl River Delta reflected by 16S rRNA and hydrazine oxidoreductase (HZO) encoding gene analyses. *Ecotoxicology* 20(8), 1780–1790. doi:10.1007/s10646-011-0711-4
- Li, Y., Zheng, L., Zhang, Y., Liu, H., Jing, H. (2019). Comparative metagenomics study reveals pollution induced changes of microbial genes in mangrove sediments. *Scientific Reports* 9(1). doi:10.1038/s41598-019-42260-4 10.1038/s41598
- Locey, K.J., Lennon, J.T. (2016). Scaling laws predict global microbial diversity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 113(21):5970-5975. doi:10.1073/pnas.1521291113
- López-Pérez, M., Haro-Moreno, J.M., Iranzo, J., Rodriguez-Valera, F. (2020). Genomes of the “Candidatus Actinomarinales” order: highly streamlined marine epipelagic actinobacteria. *mSystems* 5:e01041-20. doi:10.1128/mSystems.01041-20.
- Lynch, M.D.J., Neufeld, J.D. (2015). Ecology and exploration of the rare biosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 13(4), 217–229. doi:10.1038/nrmicro3400
- Matilla, M.A., Pizarro-Tobias, P., Roca, A., Fernandez, M., Duque, E., Molina, L., Wu, X., van der Lelie, D., Gomez, M.J., Segura, A., Ramos, J.L. (2011). Complete genome of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* BIRD-1. *J. Bacteriol.* 193, 1290. doi:10.1128/JB.01281-10
- McLeod, E., Chmura, G.L., Bouillon, S., Salm, R., Bjork, M., Duarte, C.M., Lovelock, C.E., Schlesinger, W..H, Silliman, B.R. (2011). A blueprint for blue carbon: toward an improved understanding of the role of vegetated coastal habitats in sequestering CO₂. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2011;9:552–560. doi: 10.1890/110004.
- Kathiresan, K., Selvam, M.M. (2006). Evaluation of beneficial bacteria from mangrove soil. *Botanica Marina* 49(1). doi:10.1515/bot.2006.011
- Pan, Y., Chen, J., Zhou, H., Farzana, S., Tam, N. F. Y. (2017). Vertical distribution of dehalogenating bacteria in mangrove sediment and their potential to remove polybrominated diphenyl ether contamination. *Marine Pollution Bulletin* 124(2), 1055–1062. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.12.0

- McMurdie, P. J., Holmes, S. (2014). Shiny-phyloseq: Web application for interactive microbiome analysis with provenance tracking. *Bioinformatics*, 31(2), 282–283. doi:10.1093/bioinformatics/btu616
- Pujalte, M.J., Lucena, T., Ruvira, M.A., Arahál, D.R., Macián, M.C. (2014). The Family Rhodobacteraceae. In: Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-30197-1_377
- Raghu, K., MacRae, I.C. (1966). Occurrence of phosphate-dissolving microorganisms in the rhizosphere of rice plants and in submerged soils. *Journal of Applied Bacteriology* 29, 582–586. doi:10.1111/j.1365-2672.1966.tb03511.x
- Ruiz, E.B., Salort, J.M.B., Munar, A.R., Fernández, B.N. (2019). Aplicación de la técnica Biolog™ ECO-plate para el estudio del perfil fisiológico de las comunidades microbianas del suelo agrícola. *Revista Ecosistemas*, 28(3), 46-53 doi.: 10.7818/ecos.1687
- Spain, A.M., Krumholz, L R., Elshahed, M.S. (2009). Abundance, composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria. *The ISME Journal* 3(8), 992–1000. doi:10.1038/ismej.2009.43
- Sengupta, A., Chaudhuri, S. (1991). Ecology of heterotrophic dinitrogen fixation in the rhizosphere of mangrove plant community at Ganges River estuary in India. *Oecologia* 87, 560-564. doi:10.1007/978-3-319-14595-2
- Suominen, S., van Vliet, D.M., Sánchez-Andrea, I., van der Meer, M.T.J., Sinninghe Damsté, J.S., Villanueva, L. (2021). Organic matter type defines the composition of active microbial communities originating from anoxic baltic sea sediments. *Frontiers in Microbiology* 12, 628301. doi: 10.3389/fmicb.2021.628301
- Taş, N., Van Eekert, M.H.A., De Vos, W.M., Smidt, H. (2009). The little bacteria that can - diversity, genomics and ecophysiology of “*Dehalococcoides*” spp. in contaminated environments. *Microbial Biotechnology* 3(4), 389–402. doi:10.1111/j.1751-7915.2009.00147.x
- Thamdrup, B., Dalsgaard, T. (2002). Production of N₂ through anaerobic ammonium oxidation coupled to nitrate reduction in marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 68(3), 1312-1318. doi:10.1128/AEM.68.3.1312-1318.2002
- Toledo, G., Bashan, Y., Soeldner, A. (1995). In vitro colonization and increase in nitrogen fixation of seedling roots of black mangrove inoculated by a filamentous cyanobacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 41, 1012–1020. doi:10.1139/m95-140
- Torres, G.G., Figueroa, I., Muñoz, A., Polanía, J., Vanegas, J. (2019). Potential bacterial bioindicators of urban pollution in mangroves. *Environmental Pollution*, 113293. doi:10.1016/j.envpol.2019.113293
- Torsvik, V., Goksøyr, J., Daae FL. (1990). High diversity in DNA of soil bacteria. *Applied Environmental Microbiology* 56(3), 782-787. doi:10.1128/aem.56.3.782-787.1990
- Uchino, F., Hambali, G.G., Yatazawa, M. (1984). Nitrogen-fixing bacteria from Warty Lenticellate bark of a mangrove tree, *Bruguiera gymnorhiza* (L.) Lamk. *Applied Environmental Microbiology* 47(1), 44-48. doi:10.1128/aem.47.1.44-48.1984
- Ullah, R., Yasir, M., Khan, I., Bibi, F., Sohrab, S. S., Al-Ansari, A., ... Azhar, E. I. (2017). Comparative bacterial community analysis in relatively pristine and anthropogenically influenced mangrove ecosystems on the Red Sea. *Canadian Journal of Microbiology* 63(8), 649–660. doi:10.1139/cjm-2016-0587
- Van der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D., van Straalen, N.M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 11(3), 296–310. doi:10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x

- Vazquez, P., Holguin, G., Puente, M.E., Lopez-Cortes, A., Bashan, Y. (2000). Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biology and Fertility of Soils* 30(5-6), 460–468. doi:10.1007/s003740050024
- Waite, D.W., Chuvochina, M., Pelikan, C., Parks, D.H., Yilmaz, P., Wagner, M., Loy, A., Naganuma, T., Nakai, R., Whitman, W.B., Hahn, M.W., Kuever, J., Hugenholtz, P. (2020). Proposal to reclassify the proteobacterial classes Deltaproteobacteria and Oligoflexia, and the phylum Thermodesulfobacteria into four phyla reflecting major functional capabilities. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 70(11), 5972-6016. doi:10.1099/ijsem.0.004213
- Wakeham, S. G., Amann, R., Freeman, K.H., Hopmans, E.C., Jørgensen, B.B., Putnam, I.F., ... Woebken, D. (2007). Microbial ecology of the stratified water column of the Black Sea as revealed by a comprehensive biomarker study. *Organic Geochemistry* 38(12), 2070–2097. doi:10.1016/j.orggeochem.2007.08.
- Wickham, H. (2009). *Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. 2nd Edition, Springer, New York. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-98141-3>
- Xue, D., Yao, H.-Y., Ge, D.-Y., Huang, C.-Y. (2008). Soil microbial community structure in diverse land use systems: a comparative study using Biolog, DGGE, and PLFA analyses. *Pedosphere* 18(5), 653–663. doi:10.1016/s1002-0160(08)60060-0
- Yachi, S., Loreau, M. (1999). Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: the insurance hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 96(4), 1463-1468. doi:10.1073/pnas.96.4.1463
- Zhao, H., Yan, B., Mo, S., Nie, S., Li, Q., Ou, Q., ... Jiang, C. (2019). Carbohydrate metabolism genes dominant in a subtropical marine mangrove ecosystem revealed by metagenomics analysis. *Journal of Microbiology*. doi:10.1007/s12275-019-8679-5
- Zuberer, D.A., Silver, W.S. (1978). Biological dinitrogen fixation (acetylene reduction) associated with Florida mangroves. *Applied and Environmental Microbiology* 35(3), 567-575. doi:10.1128/aem.35.3.567-575.1978

11. ANEXO

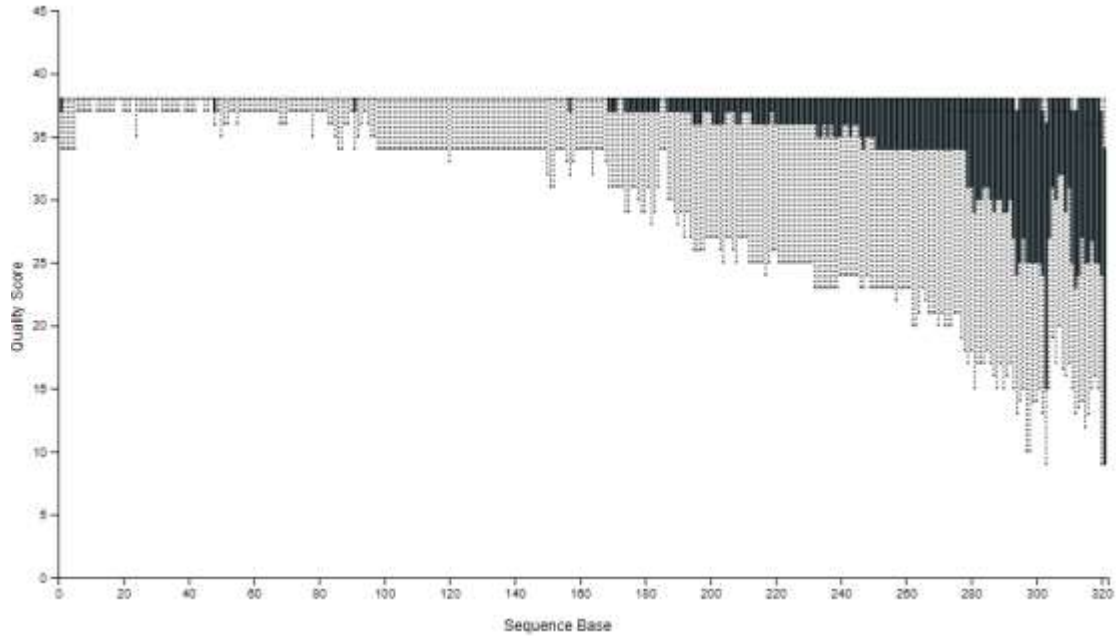


Figura A. Gráfico de calidad de las secuencias forward

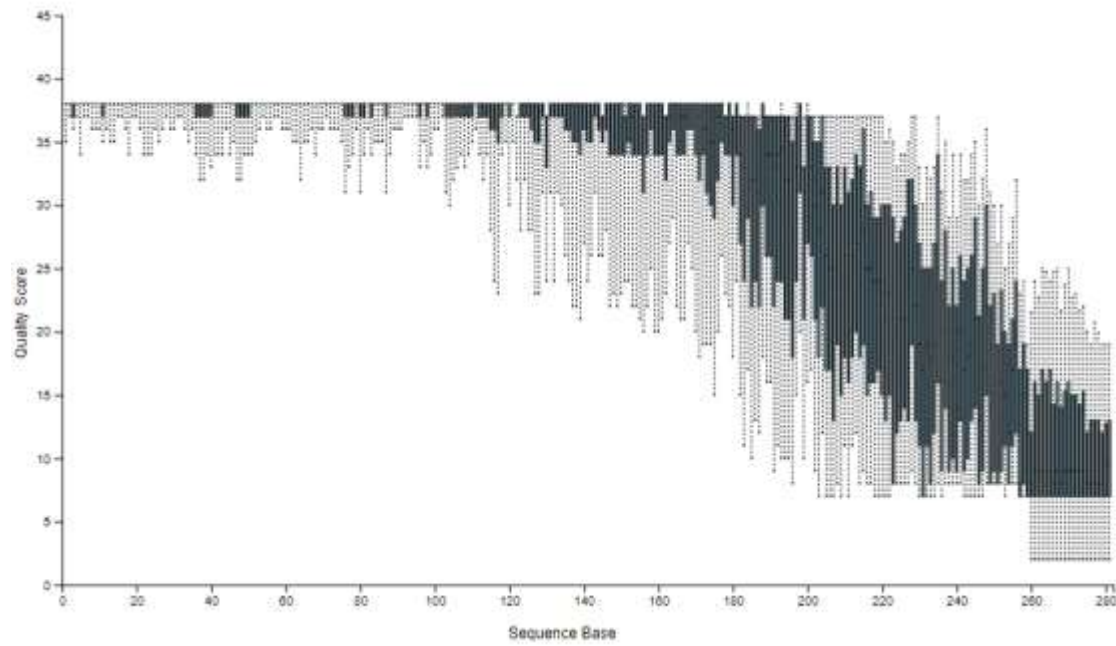


Figura B. Gráfico de calidad de secuencias reverse.

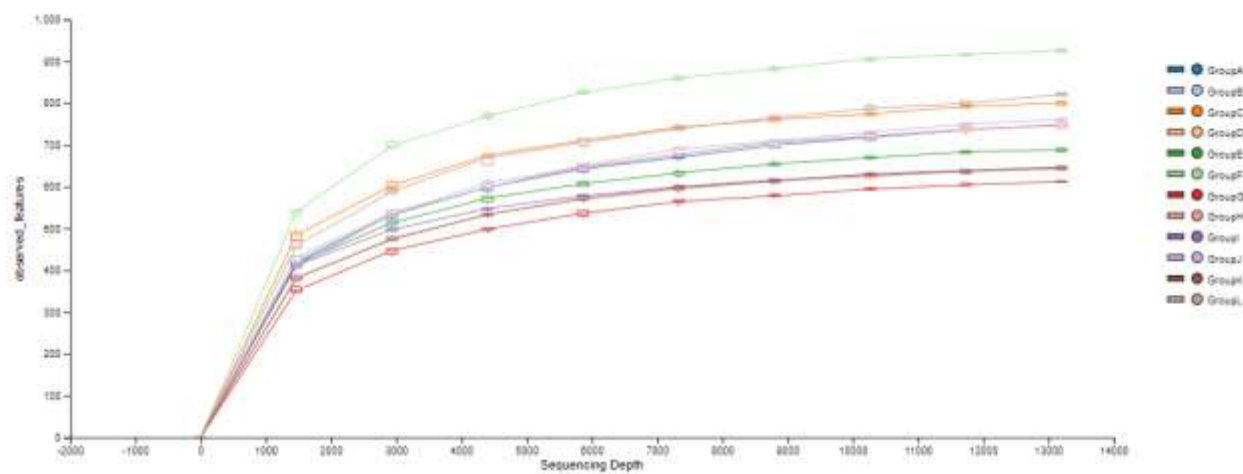


Figura C. Curva de rarefacción alfa de ASVs encontrados en para cada muestra.



Figura D. Sitio 3 del sistema de manglar perturbado (P3)