

La investigación reportada en esta tesis es parte de los programas de investigación del CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California).

La investigación fue financiada por el CONAHCYT (Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías).

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México). El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo o titular de los Derechos Autor.

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Maestría en Ciencias
en Ecología Marina**

**Caracterización de la comunidad microbiana asociada a *Porites panamensis*
(Scleractinia: Poritidae), en Bahía de los Ángeles, Baja California**

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestra en Ciencias

Presenta:

Evelyn López García

Ensenada, Baja California, México
2024

Tesis defendida por
Evelyn López García

y aprobada por el siguiente Comité

Dr. Rafael Andrés Cabral Tena
Codirector de tesis

Dr. Miguel Angel Martínez Mercado
Codirector de tesis

Dra. Clara Elizabeth Galindo Sánchez

Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera

Dra. Laura Gómez Consarnau



Dr. Rafael Andrés Cabral Tena
Coordinador del Posgrado en Ecología Marina

Dra. Ana Denise Re Araujo
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Evelyn López García** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestra en Ciencias en Ecología Marina.

Caracterización de la comunidad microbiana asociada a *Porites panamensis* (Scleractinia: Poritidae), en Bahía de los Ángeles, Baja California

Resumen aprobado por:

Dr. Rafael Andrés Cabral Tena
Codirector de tesis

Dr. Miguel Angel Martínez Mercado
Codirector de tesis

Los arrecifes coralinos son ecosistemas cruciales en la ecología de los océanos. Sin embargo, se enfrentan a una crisis global impulsada por factores antropogénicos y el cambio climático, lo que ha provocado su degradación, así como un aumento en las enfermedades en los corales. Se ha observado que los corales viven en simbiosis con diversos microorganismos eucariotas y procariotas denominados colectivamente microbioma coralino. En específico, se ha reportado que las bacterias y arqueas contribuyen al suministro de nutrientes y a la protección de patógenos de los corales, brindándoles resistencia ante enfermedades o blanqueamiento, además de contribuir a una mayor resiliencia de los corales frente a condiciones ambientales extremas. Esta investigación se enfoca en caracterizar la comunidad de bacterias y arqueas del coral *Porites panamensis* en Bahía de los Ángeles, Baja California (BLA) un hábitat con condiciones ambientales subóptimas para el desarrollo de corales zooxantelados, además de ser el límite de distribución latitudinal de la especie. Este estudio se realizó en dos sitios con diferencias oceanográficas y en temporadas ambientales contrastantes. Se tomaron muestras de 5 colonias de cada sitio, en 2 temporadas ambientales y mediante la técnica de metabarcoding, se amplificó la región V4 del gen 16S ARN. El microbioma de *Porites panamensis* mostró estabilidad tanto en su estructura como en su composición. Las familias dominantes fueron Flavobacteriaceae, SAR116 clade, Rhodobacteraceae, Chlorobiaceae y Nitrosopumilaceae. No se observaron diferencias significativas en la diversidad alfa entre los sitios y temporadas, medida a través del índice de Shannon y la diversidad filogenética de Faith. Además, el análisis de PERMANOVA reveló que no hubo diferencias significativas en la comunidad microbiana de *P. panamensis* entre los diferentes sitios ni temporadas. Estos resultados sugieren que la estabilidad del microbioma de *P. panamensis* podría ser el reflejo de la adaptación a las condiciones ambientales presentes en BLA.

Palabras clave: Microbioma, *Porites panamensis*, condiciones ambientales subóptimas, metabarcoding, estabilidad

Abstract of the thesis presented by **Evelyn López García** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Marine ecology

Characterization of the microbial community associated with *Porites panamensis* (Scleractinia: Poritidae), in Bahia de los Angeles, Baja California.

Abstract approved by:

Dr. Rafael Andrés Cabral Tena
Thesis Director

Dr. Miguel Angel Martínez Mercado
Thesis Director

Coral reefs are crucial ecosystems in the ecology of the oceans. However, they face a global crisis driven by anthropogenic factors and climate change, leading to their degradation and increased coral diseases. Corals have been observed to live in symbiosis with some eukaryotic and prokaryotic microorganisms called the coral microbiome. Bacteria and archaea contribute to the supply of nutrients and the protection of corals from pathogens, providing them with resistance to diseases or bleaching, and contributing to the resilience of corals against extreme environmental conditions. This research focuses on characterizing the bacterial and archaeal community of the coral *Porites panamensis* in Bahia de los Angeles, Baja California (BLA), an habitat with suboptimal environmental conditions for the development of zooxanthellate corals, in addition to being the limit of latitudinal distribution of the species. This study compares two sites with oceanographic differences and contrasting environmental seasons. Samples were taken from 5 colonies at each site in 2 environmental seasons, and using the metabarcoding technique, the V4 region of the 16S rRNA gene was amplified. The *Porites panamensis* microbiome showed stability in its structure and composition. The dominant families were Flavobacteriaceae, SAR116 clade, Rhodobacteraceae, Chlorobiaceae, and Nitrosopumilaceae. There were no significant differences in alpha diversity between sites and seasons, as measured by the Shannon index and Faith's phylogenetic diversity. Additionally, PERMANOVA analysis revealed no significant differences in the microbial community of *P. panamensis* between different sites or seasons. These results suggest that the stability of the *P. panamensis* microbiome may reflect the adaptation to the environmental conditions present in BLA.

Keywords: microbiome, *Porites panamensis*, suboptimal environmental conditions, metabarcoding, stability

Dedicatoria

A mis padres Manuel y Marisela

A Yoyis

A Pepe †

Y al mar, por maravillarnos y permitirnos vivirlo.

Agradecimientos

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE) y al posgrado en Ecología Marina por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado y contribuir a mi formación profesional y académica. Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo económico brindado para poder llevar a cabo esta tesis y mis estudios de posgrado (CVU 1107156).

A mis directores de tesis: a Miguel, por compartir tanto su conocimiento como enseñanzas. Por la guía, el apoyo constante, por nunca quitar el dedo del renglón aún en los momentos más críticos y sobre todo por la paciencia. A Rafa, por compartir la pasión y amor por los corales. Por la guía, la paciencia, el acompañamiento, la contención y el apoyo incondicional tanto académico como personal, sobre todo en los momentos más difíciles.

A los miembros del comité: Clarisa, Laura y LECA por aceptar ser miembros de mi comité de tesis, por sus consejos y sugerencias, que me ayudaron a acabar el escrito, sin su visión este trabajo no hubiera estado completo.

A los miembros de los laboratorios EPZC-ARBIOLAB y Genómica Funcional por el apoyo para la realización de esta tesis. A mis compañeros por la bonita red de apoyo y por los momentos compartidos. Al Laboratorio de Genómica y Bioinformática del CIBNOR por permitirnos utilizar su servidor de cómputo y salvar el procesamiento de datos.

A mis padres por su amor incondicional, su constante acompañamiento y apoyo, por creer en mí y por nunca soltarme. Gracias por siempre ayudarme a volver a mi centro, por no dejarme olvidar mi sonrisa, y por motivarme a seguir creciendo y preparándome. Sobre todo, les agradezco por brindarme las herramientas necesarias para soñar y aspirar a querer llegar más lejos. Son los pilares más grandes en mi vida.

A Yoyis, por enseñarme fortaleza y ser el rayito de luz y amor que siempre me espera en casa. A Carlos, por no dejar que olvide a mi niña interior y recordarme con cada llamada, juego y abrazo que nuestra conexión es indestructible. A Martha, por su compañía constante, consejos, y por estar siempre al pendiente de mí. Gracias por no dejar que me perdiera en la distancia. A mi familia, por estar siempre presentes a pesar de la distancia. Los amo.

A mi Doc. Carmen, por su apoyo e impulso desde antes de que esto fuera una idea y por recibirme como nunca imaginé en cada regreso. La quiero muchísimo.

A Erick, gracias por comenzar este camino conmigo y convertirse en mi familia en la Ensalada.

A Rebequin por ser mi amiga, escucha y socia, gracias por las pláticas tan enriquecedoras en las tardes del lab, por el chisme y por enseñarme tanto con nuestro negocio (hasta aguantar la ruptura).

Al team chismesito, Grecia, Héctor y Alexis por ser un espacio seguro para platicar y compartir, además de la contención y apoyo.

A mis chicas súper poderosas, Karla y Sandra, por las tardes de chisme, tacos, vino o café. Gracias por convertirse en mi primer lugar seguro fuera de casa, por las risas, los secretos, los momentos de contención en las crisis, gracias por su bella amistad. Siempre tendrán un lugar especial en mi corazón.

A mis mosqueteras, Nad y Ada, por enseñarme una amistad diferente, una en la que las diferencias, creencias y formas de ser nos hacen más fuertes y nos ayudan a crecer. Gracias por tanto amor, diversión, risas, lágrimas y anécdotas juntas. Gracias a Dartañán, por haber aguantado y cuidado tanto a las tres mosqueteras, por tantas risas, el bullying, la confianza, la bonita amistad y hacerme sentir que ahora tengo un hermano mayor. Les quiero con todo mi corazón.

A mis amigos, Brenda, Rodrigo, Marco, Lau, Andy, Dam, Misa, Axel y Fer por no soltarme y hacerme sentir cerca a pesar de la distancia, por buscarme en cada regreso, por siempre recibirme con los brazos abiertos y con tanto cariño. No tienen idea lo importante que ha sido tenerlos cerca en este proceso. Los amo.

A Emi, gracias por tu presencia y apoyo en cada paso que doy. Gracias por siempre impulsarme a seguir adelante, por ser mi ancla cuando mis ganas parecían escaparse y por no dejarme dudar de mí. Gracias recordarme creer en mí, incluso en los momentos en que yo dudaba. Tu apoyo incondicional estos años ha hecho que los altibajos sean más llevaderos.

A Papito y Mancha por tener su patita siempre para apapacharme y por tanto amor.

Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	x
Lista de tablas.....	xii
Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1 Antecedentes.....	6
1.2 Justificación.....	10
1.3 Hipótesis.....	11
1.4 Objetivos.....	11
1.4.1 Objetivo general.....	11
1.4.2 Objetivos específicos.....	11
Capítulo 2. Metodología.....	12
2.1 Área de estudio.....	12
2.2 Sitios de muestreo.....	13
2.3 Recolección de muestras.....	14
2.4 Descripción ambiental.....	15
2.5 Estandarización del protocolo de extracción de ADN.....	15
2.6 Extracción de ADN.....	16
2.7 Amplificación de ADN.....	16
2.8 Análisis bioinformático.....	17

2.8.1	Control de calidad	17
2.8.2	Procesamiento en DADA2	18
2.8.3	Asignación taxonómica.....	18
2.8.4	Estandarización de datos.....	19
2.9	Análisis ecológico	19
2.9.1	Diversidad del microbioma coralino.....	19
2.9.2	Comparación de la composición microbiana entre sitio y temporadas.....	20
Capítulo 3.	Resultados	21
3.1	Descripción ambiental.....	21
3.2	Extracción de ADN.....	21
3.3	Verificación de la presencia de material genético bacteriano	23
3.4	Secuenciación y análisis bioinformático	24
3.4.1	Control de calidad	24
3.4.1	Procesamiento en DADA	26
3.4.2	Asignación taxonómica y normalización de datos.....	28
3.5	Análisis ecológico	29
3.5.1	Descripción de la comunidad microbiana.....	29
3.6	Caracterización de la comunidad microbiana entre sitios y temporadas	30
3.6.1	Diversidad alfa.....	34
3.6.2	Diversidad beta.....	36
Capítulo 4.	Discusión.....	38
4.1	Composición microbiana	38
4.2	Comparación de la comunidad microbiana entre sitios y temporadas.	41
Capítulo 5.	Conclusiones	45

Literatura citada 46

Anexos..... 59

Lista de figuras

1. Anatomía coralina y asociaciones microbianas. Tomado y modificado de Maire et al. (2021) .3
2. Ubicación geográfica de la zona de estudio en Bahía de los Ángeles, Baja California, México. (Rojo: sitio protegido, verde: sitio expuesto)13
3. Morfología de colonias del coral *Porites panamensis*: subcolumnar (a), incrustantes (b), columnares (c).....14
4. Datos satelitales de temperatura Superficial del Mar mensual promedio en el año 2022 en BLA con desviación estándar. Azul: toma de muestras correspondientes a la temporada de invierno, rojo: toma de muestras correspondientes a verano.21
5. Daño interno corales. a: coral sin daño interno, b: coral con almeja, c: coral con túnel de poliqueto, d, coral sin daño, e: coral con daño interno, f: coral contaminado con material orgánico desconocido, g: coral sin daño, h: coral con daño interno, i: coral con alga.....22
6. Gel representativo de las extracciones de DNA23
7. Geles de agarosa al 1.5% con fragmento correspondiente a la región V4 gen 16S ARNr de las amplificaciones de muestras de invierno. En la primera columna de cada gel se observa la escalera de 100 pb, posteriormente se observan las muestras del sitio 1: a-c y Sitio 2: d-f, con los controles negativos (C-) de cada extracción.23
8. Geles de agarosa al 1.5% con fragmento correspondiente a la región V4 gen 16S ARNr de las amplificaciones de muestras de invierno. En la primera columna de cada gel se observa la escalera de 100 pb, posteriormente se observan las muestras del sitio 1: a-c y Sitio 2: d-f. con los controles negativos (C-) de cada extracción.24
9. Análisis de calidad de secuencias mediante Multiqc antes del procesamiento. a: Calidad promedio de secuencia base, b: Puntuaciones de calidad promedio por secuencia, c: Distribución de longitud de secuencia, d: Contenido de adaptadores.25
10. Análisis de calidad de secuencias mediante Multiqc después del procesamiento. a: Calidad promedio de secuencia base, b: Puntuaciones de calidad por secuencia, c: Distribución de longitud de secuencia, d: Contenido de adaptadores.26
11. Tasas de error. a: read forward b: read reverse27
12. Recuento de reads a través del procesamiento en DADA227
13. Curvas de rarefacción. a: Cantidad de secuencias por muestra secuenciada. b: Cantidad de secuencias después consolidar las repeticiones.....28
14. Abundancia relativa de dominios por temporadas y sitios. Sitio protegido: S1, sitio expuesto: S2, colonia C1 – C530

15. Abundancia relativa de filos por temporadas y sitios. Sitio protegido: S1, sitio expuesto: S2, colonia C1 – C5	31
16. Abundancia relativa de familias por temporada y sitio. Solo se muestran los microorganismos identificados con abundancias mayores al 10%. Sitio protegido: S1, sitio expuesto: S2, colonia C1 – C5	32
17. Abundancia relativa de géneros por temporada y sitio. Solo se muestran los microorganismos identificados con abundancias mayores al 10%. Sitio protegido: S1, sitio expuesto: S2, colonia C1 – C5	33
18. Índice de Diversidad de Shannon por sitios y temporadas. Promedio de cada sitio con desviación estándar (DS).	34
19. Diversidad Filogenética de Faith por sitio y temporada. Promedio de cada sitio con desviación estándar (SD).	35
20. Análisis de PCoA utilizando distancia UniFrac. Se indican las estaciones Verano (Rosa), Invierno (azul) y los sitios 1 (circulo) y 2 (triángulo).	36
21. Estandarización realizada al protocolo de extracción del kit DNeasy PowerSoil Pro (Qiagen, Hilden, Germany) con las modificaciones realizadas por Sunagawa <i>et al.</i> (2010) y Reigel <i>et al.</i> (2021)	60

Lista de tablas

1. Pruebas para estandarizar la extracción de ADN.....	15
2. Programa utilizado para la primera PCR.....	17
3. Bacterias y Arqueas registradas con mayor abundancia relativa.	29
4. Resultado de la búsqueda en BLAST de las bacterias con mayor abundancia con género no asignado.	30
5. Resultado ANOVA de la diversidad de Shannon entre sitios y temporadas	35
6. Resultado ANOVA de la diversidad de filogenética de Faith entre sitios y temporadas.....	35
7. Resultado PERMANOVA anidado de la diversidad beta entre sitios y temporadas.....	37
8. Eucariotas identificadas utilizando blast.	61
9. Resultados de la extracción de ADN.....	63
10. Abundancia relativa del microbioma coralino de <i>Porites panamensis</i>	65

Capítulo 1. Introducción

Los arrecifes coralinos juegan un papel crucial en la ecología de los océanos, ya que protegen la costa de la erosión, son áreas de refugio, reproducción y alimentación para las diferentes etapas de vida de muchas especies marinas (Brandl et al., 2019; Harborne et al., 2017). Además, los arrecifes coralinos son un eslabón clave en los ciclos de nutrientes como la captura y la fijación de carbono y nitrógeno en el sistema (Bourne et al., 2012; Mhuantong et al., 2019; Hernández-Zulueta et al., 2021). Estos ecosistemas representan menos del 0.1% de la superficie del océano, sin embargo, albergan aproximadamente el 25% de todas las especies marinas (Bourne et al., 2012).

En las últimas décadas, los arrecifes de coral se enfrentan a una crisis global, la cual está relacionada con la degradación de los corales impulsada por fenómenos complejos que incluyen factores naturales, además de presiones antropogénicas como la contaminación, la acidificación de los océanos, el cambio climático o la sobre pesca; lo que ha provocado la degradación de aproximadamente el 50% de la cobertura coralina del mundo en los últimos 50 años (Hughes et al., 2010; Harborne et al., 2017; Mhuantong et al., 2019; González-Barrios et al., 2021).

Las perturbaciones frecuentes a las que están expuestos los arrecifes coralinos han reducido su capacidad de recuperación, como lo han hecho a lo largo de su historia evolutiva. (Hughes et al., 2010; Reigel, Paz-García et al., 2021). Las enfermedades bacterianas infecciosas en los corales se han convertido en una de las principales causas de la destrucción y declive de los arrecifes de coral en todo el mundo en las últimas décadas como consecuencia del cambio climático (Frias-Lopez et al., 2002; Rosenberg et al., 2002; Montilla et al., 2019).

En los últimos años, se ha reportado que los corales dependen de un conjunto diverso de microorganismos asociados con el huésped que desempeñan funciones en la adquisición de energía y nutrientes, la reproducción, la mitigación de compuestos tóxicos y el control de patógenos (Kvennefors et al., 2012; Rosenberg et al., 2007; Ziegler et al., 2017a, 2019). Los resultados de estos estudios han estimulado un aumento en la investigación sobre la diversidad y las funciones de los microorganismos asociados con los corales formadores de arrecifes.

Los corales mantienen una relación dinámica con un conjunto de microorganismos que incluyen algas dinoflageladas endosimbióticas de la familia *Symbiodiniaceae*, bacterias, arqueas, hongos y virus

denominados colectivamente como holobionte coralino (Rohwer et al., 2002; Marcelino et al., 2016). Después de la simbiosis con los dinoflagelados endosimbióticos, la mayor parte de los estudios del holobionte coralino se han enfocado en las interacciones bacteria-coral (Bourne & Munn, 2005; Epstein et al., 2019; Hansson et al., 2009; Marcelino & Verbruggen, 2016; Reigel et al., 2021; Ritchie & Smith, 2004; Rohwer et al., 2002; Thompson et al., 2014). De esta forma, se han identificado alrededor de 39 filos de bacterias asociadas a corales, demostrando como las bacterias interactúan con el desarrollo, la ecología y la evolución del coral (Huggett et al., 2019).

El estudio de la biología de los microorganismos eucariotas y procariotas asociados a los corales, también llamados microbioma, recientemente se han convertido en el centro de atención debido a su biodiversidad y a sus funciones potenciales en la nutrición de los corales, el ciclo del nitrógeno, la bioerosión y a su relación con las enfermedades de los corales (Marcelino et al., 2018). Los microorganismos asociados a los corales pueden ser comensales, mutualistas o patógenos, con densidades estimadas de 1×10^2 a $>1 \times 10^6$ células por centímetro cuadrado de tejido y diversidades que exceden miles de unidades taxonómicas operativas (OTU) únicas en algunas especies hospedantes (Bourne et al., 2016; Huggett et al., 2019).

El microbioma asociado a los corales puede formar relaciones propias de la especie con su huésped (Bourne & Munn, 2005; Daniels et al., 2011), pero también pueden cambiar dependiendo de la región biogeográfica en la que se encuentre el huésped o los nichos microbianos que hay dentro de una colonia de coral (Hernandez-Agreda et al., 2018). Los nichos o microhábitats conocidos dentro del coral son: mucus, ectodermo, gastrodermo y esqueleto (Bourne et al., 2016a; Bourne & Munn, 2005; Epstein et al., 2019; Huggett & Apprill, 2019) y cada uno de ellos puede proporcionar condiciones ambientales únicas que favorecen a los diferentes grupos de bacterias (Bourne et al., 2008; Hernández-Agreda et al., 2016).

El mucus, que constituye la capa externa del coral, es la primera línea de defensa contra la contaminación biológica. Además de sus propiedades antiincrustantes, proporciona protección contra la invasión de patógenos y la sedimentación (Brown & Bythell, 2005; Thompson et al., 2014). Asimismo, actúa como trampa para partículas portadoras de nutrientes que participan en la fotosíntesis y la fijación de nitrógeno (Thompson et al., 2014). En el gastrodermo predomina *Symbiodinacea* el cual se aloja en el simbiosoma, vesículas que forman parte del coral. La abundancia de *Symbiodinacea* se ha correlacionado positivamente con la abundancia de bacterias fijadoras de nitrógeno proporcionando beneficios nutricionales mediante la oxidación de compuestos como el amoníaco y el nitrato (Agostini et al., 2012; Thompson et al., 2014). En la cavidad gastrovascular del coral las bacterias pueden ayudar en la incorporación de nutrientes como vitaminas y aminoácidos, mientras participan en la digestión de los alimentos (Hughes et al., 2022). Dentro

del esqueleto del coral, las bacterias pueden ayudar en la síntesis y depósito del esqueleto de coral mediante la mineralización y la remineralización de nutrientes (Pogoreutz et al., 2017; Ricci et al., 2019; van Oppen & Blackall, 2019).

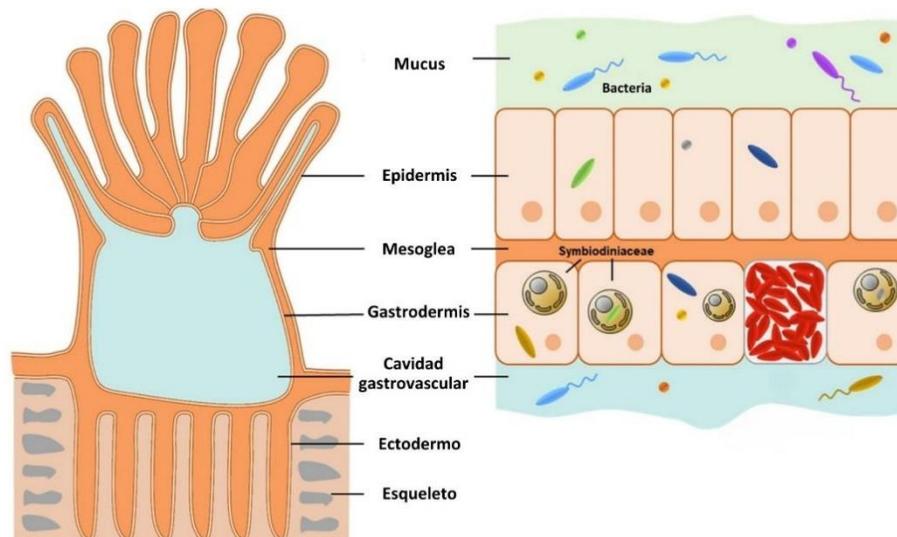


Figura 1. Anatomía coralina y asociaciones microbianas. Tomado y modificado de Maire et al. (2021)

El microbioma coralino está constituido por comunidades que difieren significativamente de las comunidades presentes en el agua circundante. Esto se debe a las actividades fisiológicas y metabólicas que ocurren dentro de los corales, las cuales son distintas del entorno circundante y tienden a ser muy específicas (Pantos et al., 2003; Ritchie & Smith, 2004). La comunidad microbiana de los corales puede modificarse con cambios en los parámetros fisicoquímicos del agua de mar, la estación ambiental, la acidificación del océano, la temperatura, la disponibilidad nutrientes y luz, según la especie huésped, el estado de salud del organismo o la etapa de vida del coral huésped (Ainsworth et al., 2010; Brown et al., 2000; Chen et al., 2016; Li et al., 2022; Shore et al., 2021). Cuando las condiciones ambientales cambian por alguna de las razones mencionadas anteriormente, se consideran estresantes o subóptimos, y pueden influir en la composición y las funciones del microbioma asociados a los corales (Bourne et al., 2016; Thompson et al., 2014), lo que afecta la salud del coral y los mecanismos de defensa contra las bacterias de vida libre, así como la aclimatación o adaptación de los holobiontes (Bourne et al., 2016; Pantos et al., 2003; Vanwonterghem et al., 2020).

En los últimos años se ha reportado que las anomalías de la temperatura en el mar a menudo desencadenan una ruptura de la simbiosis entre los corales, sus algas endosimbiontes y sus comunidades

bacterianas provocando blanqueamiento y enfermedades en los corales (T. P. Hughes et al., 2017). Al haber signos de blanqueamiento o enfermedad existe una disminución en la actividad protectora del moco coralino (Thompson et al., 2014). Cuando el blanqueamiento no se debe a la exposición a altas temperaturas generalmente se asocia con la estabilidad general del microbioma y a su actividad antibiótica (Bourne et al., 2008; Gajigan et al., 2017; Pantos et al., 2003; Ritchie et al., 2006).

En condiciones de estrés ambiental que provocan blanqueamiento o signos de enfermedad en los corales, se ha observado una reducción en la presencia de bacterias beneficiosas, como las del género *Endozoicomonas* (van Oppen & Blackall, 2019), y un aumento de bacterias oportunistas y potenciales patógenos, como las del género *Vibrio* y *Serratia*. Después del blanqueamiento, las comunidades microbianas asociadas a los corales se recuperaron y volvieron a estar dominadas por bacterias benéficas (Kvennefors et al., 2012). La recuperación del microbioma puede representar una respuesta de aclimatación que conduce a que un microbioma pueda funcionar mejor ante condiciones de estrés térmico (Ziegler et al., 2017; Epstein et al., 2019). Estos estudios sobre la respuesta del microbioma ante condiciones ambientales estresantes demuestran la necesidad de comprender cómo son las relaciones entre los corales sanos y sus procariotas asociados; además de su resiliencia y capacidad de adaptación a nivel holobionte para proporcionar valores umbral para el manejo de los arrecifes de coral (Thompson et al., 2014; Voolstra et al., 2015).

En las últimas décadas, los avances tecnológicos y computacionales han permitido el uso colectivo de herramientas ómicas para comprender mejor los diferentes aspectos del sistema huésped-microbioma. (Mohamed et al., 2023). Los estudios sobre las interacciones bacteria - coral han proporcionado componentes básicos para comprender la función del holobionte coralino a través de técnicas moleculares que se dirigen a marcadores filogenéticos relevantes y genes funcionales (Greene et al., 2020; Littman et al., 2011; Meirelles et al., 2018; Thurber et al., 2009; Wegley et al., 2007)

Uno de estos métodos es el “metabarcoding”, el cual permite realizar la identificación de especies basándose en genes marcadores (Coissac et al., 2012). La fracción de la biodiversidad capturada por los estudios de metabarcoding depende de los marcadores y cebadores utilizados (Marcelino et al., 2016). Si se busca información de los taxones en una muestra, las herramientas como la metagenómica pueden ayudar a mejorar la resolución de identificación a nivel de cepa, así como la detección de genes que pueden proporcionar información sobre funciones metabólicas (Knight et al., 2018).

Porites panamensis es un coral escleractinio con la distribución más amplia a lo largo del Pacífico Oriental Tropical (POT), que va desde el Golfo de California (31° N) hasta Colombia (3° N). (Glynn et al., 2017; Reyes-Bonilla, 2003; Zapata & Lozano-Cortés, 2015). A pesar de que se ha descrito a *P. panamensis* como una especie vulnerable ante condiciones ambientales desfavorables debido a su estrategia reproductiva, la cual implica plánulas lecitotróficas de vida corta que se establecen cerca de la colonia parental (Glynn, 1994; Reyes Bonilla et al., 1998; Santiago-Valentín et al., 2019), su resistencia y plasticidad frente a condiciones estresantes como fluctuaciones en la temperatura, salinidad, pH y nutrientes del agua de mar, le confieren la capacidad de mantener su reclutamiento, supervivencia y el asentamiento de larvas sin ser afectados, según han demostrado diversos estudios (Anlauf et al., 2011; Cabral-Tena et al., 2013b; Halfar et al., 2005; Oporto-Guerrero et al., 2018).

Las adaptaciones locales y la capacidad de respuesta a los cambios ambientales podrían explicar la supervivencia de las poblaciones de *P. panamensis* en ambientes tan diversos y estresantes a lo largo del POT. Esta capacidad de adaptación, facilitada por su modo reproductivo y ciclo de vida breve, no solo les permite una mayor capacidad de respuesta, sino que también puede contribuir al crecimiento y la supervivencia de los corales (Oporto-Guerrero et al., 2018). Esta plasticidad y resistencia son evidentes en la distribución de *P. panamensis* en ambientes marginales como el medio estuarino de la Bahía de Málaga, Colombia, en zonas de ventilas hidrotermales en el Golfo de California y en Bahía de los Ángeles. Estos hallazgos sugieren que la especie tiene la capacidad de tolerar condiciones desfavorables como cambios en la temperatura superficial del mar, salinidad y turbidez (Oporto-Guerrero et al., 2018; Zapata & Lozano-Cortés, 2015).

La mayoría de los organismos establecen límites de tolerancia precisos ante factores abióticos como temperatura, luz, pH y concentraciones de oxígeno, los cuales definen las condiciones óptimas para su supervivencia (Schoepf et al., 2023). En el caso de los arrecifes coralinos a menudo se asocian con aguas superficiales, tropicales, oligotróficas (Kolzenburg, 2022). Las comunidades cercanas a los límites ambientales a menudo tienen una composición y un funcionamiento de ecosistema menores en términos de extensión y relevancia en comparación con arrecifes dentro de rangos ambientales considerados "normales" (Schoepf et al., 2023). Sin embargo, en las últimas décadas, cada vez más investigaciones indican que los arrecifes coralinos también se encuentran en zonas donde las condiciones ambientales son extremas o subóptimas. Estas condiciones incluyen tasas de sedimentación altas, aguas turbias y eutróficas, y/o temperaturas variables (Chen et al., 2016; Fine et al., 2013; Polapa et al., 2021; Soares, 2020).

Bahía de los Ángeles (BLA) es un sitio con condiciones ambientales subóptimas para el desarrollo de los corales escleractinios. BLA está comprendida por un complejo de 16 islas pequeñas y una isla grande (Isla Ángel de la Guarda). BLA, ubicada en la parte central del Golfo de California, es una región de constantes surgencias, influenciadas por fuertes vientos, corrientes continuas y un ambiente somero (Álvarez-Borrego, 2008). Lo que provoca cambios estacionales marcados en la temperatura superficial del mar y valores de pH bajos (Álvarez-Borrego, 2008; CONANP, 2014). Estas características también hacen que BLA tenga condiciones oceánicas particulares como una alta productividad y una baja saturación de aragonita (Ω_{arag}). (Amador et al., 1991; Álvarez-Borrego, 2008; Norzagaray-López et al., 2015). A pesar de no ser un área con condiciones ambientales óptimas para la presencia de corales zooxantelados, BLA es el límite de distribución latitudinal de 2 especies de coral: *Porites panamensis* y *Porites sverdrupi* (Reyes-Bonilla, 2003).

Los estudios realizados en esta zona han reportado que, a pesar de las condiciones subóptimas, *P. panamensis* lleva a cabo los procesos de reproducción sexual y calcificación, sin embargo, en tasas menores en comparación con sitios con condiciones ambientales óptimas (Cabral-Tena et al., 2013; Halfar et al., 2005). Asimismo, se han reportado tasas de reclutamiento larval de *P. panamensis* de 41 a 63 ind m⁻² yr⁻¹, además de una mayor densidad y tasa de reclutamiento en la temporada verano-otoño comparada con la temporada Invierno-Primavera (Luna Barreda et al., 2021; Tejada Begazo et al., 2020).

Por todas las características mencionadas anteriormente, las comunidades de corales en latitudes altas, como *P. panamensis* en BLA, han recibido una mayor atención debido a su potencial para actuar como refugio ante cambios ambientales en latitudes bajas y para probar los límites de tolerancia ambiental de varias especies de coral (Halfar et al., 2005). Sin embargo, los estudios previos se han enfocado específicamente en la biología del coral, dejando de lado a otros componentes del holobionte. En el presente trabajo se investigarán los efectos estacionales de la temperatura sobre la composición y la estructura de la comunidad microbiana de *P. panamensis* en Bahía de los Ángeles. Esto nos permitirá tener una idea del papel que las comunidades bacterianas en el microbioma del coral desempeñan en su adaptación a condiciones subóptimas como las presentes en BLA.

1.1 Antecedentes

Algunas de las principales amenazas para los arrecifes de coral son el blanqueamiento y la ocurrencia de enfermedades debido al aumento de la temperatura del agua del mar como consecuencia del cambio

climático (Rosenberg 2002). Por lo que, recientemente, el estudio de las asociaciones de los corales con sus microbiomas ha cobrado mayor importancia. En un inicio utilizando la secuenciación del rDNA 16S se identificaron 430 ribotipos bacterianos asociados a corales. Los ribotipos incluían Gammaproteobacterias, alfa proteobacterias, Bacillus, Clostridium, Cytophaga-Flavobacter, Flexibacter Bacterioides y cianobacterias (Rohwer et al., 2002).

Después del estudio de Rohwer et al. (2002), con la secuenciación masiva del gen 16S ARNr, se ha descrito la diversidad de bacterias asociada con ciertas especies de coral. A partir de estas caracterizaciones, con ayuda de otras herramientas ómicas como la metagenómica, la transcriptómica y metabolómica, se ha logrado conocer la diversidad genómica del microbioma proporcionando una comprensión integral del holobionte coralino, además de sus funciones como la fijación de nitrógeno que convierte el nitrógeno atmosférico en formas utilizables para los corales, la producción de compuestos antimicrobianos y la modulación de la respuesta inmunitaria de los corales. En conjunto mejorando las respuestas fisiológicas de los corales, lo que aumenta su capacidad para adaptarse y recuperarse ante perturbaciones ambientales (Bourne et al., 2016; Meirelles et al., 2018; Mohamed et al., 2023; Thompson et al., 2014)

Cuando un coral tiene signos de enfermedad, existen afectaciones en la comunidad bacteriana de toda la colonia (Frías-Lopez et al., 2002; Gignoux-Wolfsohn & Vollmer, 2015; Pantos & Bythell, 2006; Sato et al., 2010; Sunagawa et al., 2009; Van Oppen & Blackall, 2019). Los tejidos aparentemente sanos de los corales afectados muestran una diversidad bacteriana más baja y los grupos bacterianos comunes en los corales sanos están ausentes (Cárdenas et al., 2011; Frías-Lopez et al., 2002; van Oppen & Blackall, 2019). Esto se menciona como un mecanismo de repuesta útil para identificar colonias coralinas estresadas o susceptibles a enfermedades antes de la aparición de cualquier síntoma visible (Pantos et al., 2003; Van Oppen & Blackall, 2019).

Varias hipótesis apuntan a que el microbioma coralino beneficia a su huésped. Una de estas es la hipótesis del probiótico coralino, la cual sugiere que las bacterias asociadas a los corales pueden desempeñar un papel activo en la prevención de enfermedades inducidas por bacterias patógenas al inhibir su colonización o eliminarlos mediante la producción de compuestos antibacterianos. (Reshef et al., 2006). Las bacterias también pueden ayudar a los corales blanqueados a evitar la muerte al proporcionar los nutrientes necesarios que pueden reemplazar a los productos de la fotosíntesis de las algas (Peixoto et al., 2021).

En los últimos años, se han logrado producir bases de datos de microbiomas coralinos como la base de datos SILVA v.138 o la Base de Datos del Microbioma de Coral, integrando y comparando

filogenéticamente 21 100 secuencias. A partir de estas bases de datos, se identificaron 39 filos de bacterias y dos filos de arqueas asociados con corales, demostrando que los corales tienen uno de los microbiomas animales filogenéticamente más diversos. Registrando a *Gammaproteobacteria* como una clase de bacterias asociadas a corales más reconocidas. (Galand et al., 2023; Huggett & Apprill, 2019).

En corales del género *Acropora* se han encontrado bacterias capaces de producir antibióticos, mostrando actividad antimicrobiana frente a una variedad de bacterias con potencial patógeno como *Pseudoalteromonas* y otros ribotipos estrechamente relacionados con *Vibrio coralliilyticus* (Kvennefors et al., 2012). Sin embargo, cuando las muestras se recolectaron durante un período de aumento en la temperatura de la superficie del mar, la actividad antibiótica asociada con la mucosidad se redujo y las bacterias benéficas fueron remplazadas por *Vibrio spp.* Esto sugiere que los corales pueden tener una ventaja competitiva e inhibir especies patógenas si las condiciones ambientales son favorables, pero que el estrés ambiental puede resultar en una mayor susceptibilidad a enfermedades en las colonias de coral (Ritchie, 2006).

En corales del género *Pocillopora* del Pacífico, Central Mexicano se ha observado que el ensamblaje bacteriano a nivel local era diferente entre la mucosidad y el tejido de los corales estudiados, así como entre las muestras de sedimento y agua de mar circundante. También se determinó que hay una especificidad de bacterias dominantes, que en la mayoría de los casos se mantienen a pesar de la distancia geográfica y la variación temporal (Hernández-Zulueta et al., 2017).

Por otro lado, se ha visto que cada especie de coral tiene una especificidad marcada con un grupo específico de especies bacterianas. En el caso de corales de género *Porites*, *P. astreoides* alberga una población de bacterias dominada por *Oceanospirillales*, sugiriendo que esta especie de coral puede ser más robusta en sus afiliaciones microbianas en comparación con otras especies de corales (Morrow et al., 2012). Además, encontraron que, la mucosa de los corales del sitio más expuesto a estresores ambientales tuvo una mayor abundancia y diversidad de bacterias. Esto lo atribuyen a que las densidades de población humana provocan un mayor enriquecimiento de nutrientes y sedimentación en los arrecifes adyacentes, lo que promueve que en corales sanos aumenten los taxones bacterianos oportunistas y potencialmente patógenos (Morrow et al., 2012).

Un análisis metagenómico de la especie *P. astreoides* reportó a las *Gammaproteobacterias* como la clase más abundantes y a *Bdellovibrio* (clase: Deltaproteobacteria) como el género más abundante. Además de encontrar genes de virulencia, de síntesis y secreción de toxinas, de resistencia a antibióticos y compuestos

tóxicos, sugieren que la microbiota del coral tienen mecanismos de reparación para lidiar con el estrés (Wegley et al., 2007). En otro estudio realizado con condiciones controladas, sometieron a corales de la especie *P. asteroides* a cambios de temperatura, pH y nutrientes, mostrando que cada factor de estrés alteró rápidamente el holobionte de coral. En todos los tratamientos con condiciones subóptimas aumentaron los genes de virulencia y aumentaron las bacterias y hongos asociados con enfermedades. Los factores estresantes también alteraron el ciclo de nitrógeno y azufre del holobionte induciendo la producción de metabolitos secundarios. Estos datos muestran que ante condiciones ambientales estresantes el microbioma del coral pasa de ser una comunidad mutualista y/o comensal a una que es potencialmente patógena y oportunista (Thurber et al., 2009).

Se han encontrado corales del género *Porites* en ambientes marginales como los manglares al sureste de Sulawesi, Indonesia. Estos ambientes se consideran marginales ya que son inadecuados para el crecimiento de los corales debido a la alta tasa de sedimentación, niveles de pH relativamente bajos con fluctuaciones de temperatura y luz. En estudios dentro de estos ambientes, se sugiere que este género de corales puede adaptarse a este hábitat marginal utilizando más oxígeno para el proceso de respiración en lugar de guardarlo para el crecimiento (Polapa et al., 2021).

Porites panamensis es una especie de coral escleractinio (coral duro), zooxantelado (presencia de alga endosimbiótica en su tejido), incubador (fecundación interna) y gonocórico con actividad reproductiva durante más de seis meses al año en México (Glynn et al., 2017). Es el coral escleractinio con la distribución más amplia a lo largo del Pacífico Oriental Tropical (POT), que va desde el Golfo de California (31° N) hasta Colombia (3° N). (Glynn et al., 2017; Reyes-Bonilla, 2003; Zapata & Lozano-Cortés, 2015).

Es una especie endémica del POT que se distribuye entre los 0.5 y 30 metros de profundidad (Norzagaray-López et al., 2015). Se han observado diferentes morfologías de *P. panamensis* a lo largo de la región del Golfo de California, siendo las columnares y masivas las más comunes (Oporto-Guerrero et al., 2018; Paz-García, Reyes-Bonilla, et al., 2008). Las colonias columnares están más limitadas en su distribución a hábitats poco profundos, típicamente de 0.5 a 4.0 metros de la superficie. (Paz-García et al., 2008) Este coral crece de 0.5 a 1.5 cm año⁻¹ en el occidente de México (Cabral-Tena et al., 2013; Norzagaray-López et al., 2015).

Las colonias pequeñas son en su mayoría autótrofas y dependen de sus zooxantelas simbiotas para cumplir con sus requerimientos energéticos (Rico-Escenaro; et al., 2014). En el Golfo de California se ha asociado a *P. panamensis* con el género *Cladocopium* (Paz-García, Lajeunesse, et al., 2008), el cual tiene la

mayor distribución y se ha registrado que tiene una tolerancia amplia a la temperatura y la salinidad (Stambler, 2011). *P. panamensis* pertenece a uno de los pocos géneros que transmite sus endosimbiontes de manera vertical. Por lo tanto, la transmisión de simbiontes adaptados a la luz alta o baja puede afectar directamente el éxito de la colonización de larvas en ambientes profundos o poco profundos (Paz-García, Reyes-Bonilla, et al., 2008).

Un ambiente marginal en el que se han encontrado corales de la especie *Porites panamensis* son las ventilas hidrotermales de Bahía Concepción en Baja California Sur, México, donde las temperaturas pueden superar los 80 °C y el pH se encuentra por debajo de 6. En este lugar se estudiaron las diferencias en la composición y función de los microbiomas de la especie de coral *Porites panamensis* cerca de las ventilas hidrotermales con los que viven en condiciones "normales" circundantes. Y se encontró que sus microbiomas están aclimatados a condiciones extremas y los corales no muestran signos de estrés.

El microbioma de los corales en la zona ventilas está dominado por taxones térmicamente tolerantes, capaces de proporcionar y reciclar nutrientes. Los taxones dominantes fueron proteobacterias Endozoicomonas y algas endolíticas *Ostreobium*. Además no se registró un aumento de taxones microbianos patógenos, como *Vibrio*, cerca de los respiraderos como se esperaba por las condiciones estresantes a las que están expuestos los corales (Reigel et al., 2021).

También se ha registrado la presencia de *P. panamensis* en varias de las Islas a lo largo de BLA (Halfar et al., 2005; Reyes-Bonilla et al., 2008), un área caracterizada por su estacionalidad marcada, manifestada principalmente en variaciones de la temperatura superficial del mar (TSM), la cual influye en la dinámica y composición de su ecosistema marino provocando condiciones ambientales subóptimas. En estudios recientes se ha observado que en la isla La Llave se encuentran dos comunidades de *P. panamensis*, una en el lado este denominado protegido y otra en el lado oeste de la isla denominado expuesto (Luna Barreda et al., 2021). Se ha observado que en el sitio protegido se presenta una mayor tasa de reclutamiento y un mayor porcentaje de cobertura coralina, lo que se le ha atribuido a la orografía de la Isla (Luna Barreda et al., 2021)

1.2 Justificación

Bahía de los Ángeles es una región con condiciones ambientales subóptimas para el desarrollo de comunidades coralinas debido a sus cambios estacionales marcados. Sin embargo, es el límite norte de la

distribución de *P. panamensis*, la especie de coral con la distribución latitudinal más amplia en la costa del Pacífico debido a su capacidad adaptativa que lo hace resistente ante condiciones ambientales adversas. Se ha sugerido que la presencia de especies coralinas en latitudes altas podría ser un indicador de su capacidad de adaptación para sobrevivir en ambientes modificados por el cambio climático global, además de actuar como refugios ante estos cambios ambientales. Los estudios recientes han demostrado que algunos de los consorcios bacterianos del microbioma, pueden ayudar a resistir condiciones ambientales adversas. Por lo que, la caracterización del microbioma de *P. panamensis* a través de los cambios estacionales ayudará a entender la estructura y función del holobionte microbiano ante condiciones ambientales subóptimas y contrastantes.

1.3 Hipótesis

Si los corales de la especie *P. panamensis* han resistido las condiciones ambientales subóptimas presentes en Bahía de los Ángeles, permitiendo su asentamiento, crecimiento y reproducción, entonces la comunidad microbiana será estable en ambos sitios y estaciones climáticas del año.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Conocer la diversidad y estructura de la comunidad microbiana asociada a *Porites panamensis* de Bahía de los Ángeles Baja California en sitios y temporadas con condiciones ambientales contrastantes.

1.4.2 Objetivos específicos

- Describir la diversidad y estructura de la comunidad microbiana asociadas a *Porites panamensis* en dos sitios con diferencias oceanográficas y en temporadas ambientales contrastantes.
- Identificar si existen cambios en la composición microbiana entre sitios y temporadas ambientales contrastantes.

Capítulo 2. Metodología

2.1 Área de estudio

El Golfo de California (GC) es considerado un mar subtropical cerrado de aproximadamente mil kilómetros de longitud, con una oceanografía extremadamente dinámica producida por surgencias inducidas por el viento, mezcla por corrientes de mareas y la circulación termohalina (SEMARNAT & CONANP, 2014).

En el GC se identifican cuatro áreas oceanográficas: el Alto Golfo, la Región de las Grandes Islas del Golfo de California, el Golfo Central y la Región Sur (Lavín et al., 1997). Dentro de la Región de las Grandes Islas se encuentra Bahía de los Ángeles (BLA), la cual forma parte de la Reserva de la Biósfera “Bahía de los Ángeles, Canales de Ballenas y Salsipuedes”.

BLA es un área con estacionalidad marcada, la temperatura de la superficie del mar (TSM) presenta una oscilación estacional marcada con valores desde los 14 °C en invierno y hasta los 30°C en verano, con una media anual de 22°C (Hidalgo González et al., 1997; SEMARNAT & CONANP, 2014). Estos cambios de temperatura se atribuyen a que a finales de otoño se intensifican los vientos y disminuye la radiación solar (Martínez-Díaz-de-León et al., 2006). Además, se ha observado un constante movimiento de masas de agua ascendente cerca de la subsuperficie especialmente en otoño (Amador et al., 1991; López Tejada, 2020). El conjunto de estos fenómenos provoca una pérdida de calor a través de la superficie que contribuye a aumentar el espesor de la capa de mezcla. En contraste, a principios de febrero, la radiación solar se intensifica y la intensidad del viento se relaja, permitiendo la formación de estratificación cerca de la superficie (Martínez-Díaz-de-León et al., 2006). También se ha sugerido que estas disminuciones de temperatura están asociadas con una mayor mezcla vertical inducida por las mareas en la Bahía de Alcatraz en la región norte de BLA (Martínez-Díaz-de-León et al., 2006).

Por otro lado, existe una entrada de masas de agua en la entrada sur y norte del canal de Ballenas lo que provoca una convergencia en la profundidad creando movimientos responsables de la formación de surgencias en la zona (Álvarez-Borrego, 2008). Las surgencias se relacionan con la formación de corrientes profundas y la disminución del pH en la superficie debido al surgimiento de aguas profundas (Álvarez-Borrego, 2008; López et al., 2006).

En BLA se han registrado los valores de pH más bajos de todo el Golfo de California, con 8.1 para los primeros 100m de profundidad, mientras que la salinidad permanece constante durante el año (35.2 PSU) (Álvarez-Borrego, 2008; Halfar et al., 2005). Estos valores de pH son resultado de las variaciones espaciales y temporales de las condiciones climáticas y biológicas. Cuando hay una la estratificación de la columna de agua en la superficie se favorece la fotosíntesis causando una disminución en los niveles de CO_2 , y un aumento del pH. De esta manera, el pH y la temperatura se correlacionan positivamente en aguas superficiales donde la estratificación está controlada por la temperatura (Zirino et al., 1997).

2.2 Sitios de muestreo

El estudio se realizó en la isla La Llave, este nombre proviene de su orografía, ya que esta isla parece encajar con la isla Cerraja, a su vez estas islas colindan con isla la Ventana. En conjunto estas dos islas, Cerraja y la Ventana, brindan protección de vientos y corrientes al lado Este de la isla la Llave, mientras su lado Oeste queda expuesto a estos factores (SEMARNAT & CONANP, 2014). Por lo que se seleccionaron dos sitios, nombrados *expuesto* ($28^{\circ}59'53.1''$ N $113^{\circ}31'14.5''$ W) y *protegido* ($28^{\circ}59'57.1''$ N $113^{\circ}31'11.1''$ W) (Figura 1).

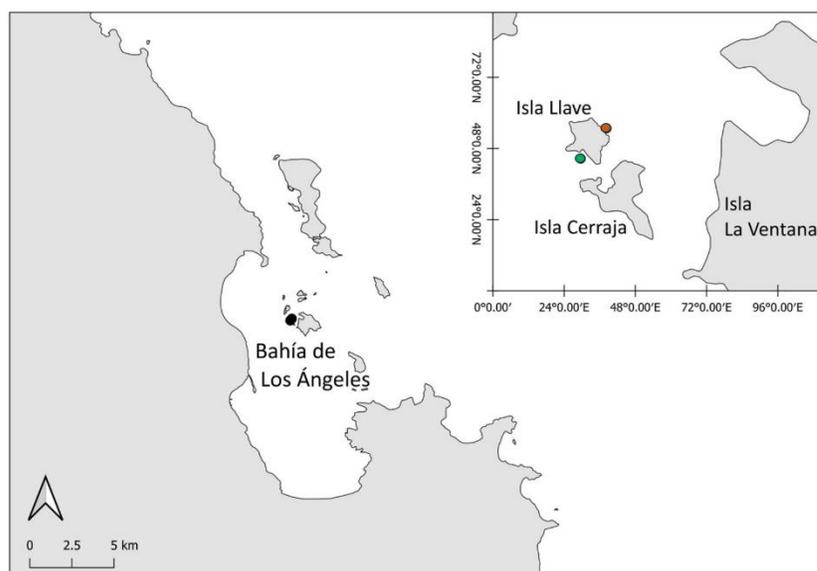


Figura 2. Ubicación geográfica de la zona de estudio en Bahía de los Ángeles, Baja California, México. (Rojo: sitio protegido, verde: sitio expuesto)

En esta isla encontramos comunidades de *Porites panamensis* que se incrustan en rocas volcánicas de

diferentes tamaños. Las formas de crecimiento de *P. panamensis* en el sitio son, en gran parte, incrustantes y columnares, con colonias individuales que exhiben protuberancias subcolumnares o columnares de no más de 5 cm de altura (Figura 2). La mayoría de las colonias con morfología columnar tienen un tamaño de alrededor de 30 cm · 30 cm, sin embargo, las colonias incrustantes no tienen más de 10 cm de alto (grosor promedio de 3 cm) y se distribuyen en un rango de profundidad de 2 a 10 m de profundidad del agua, con el crecimiento mayor a profundidades de alrededor de 5 m. Además, se puede encontrar colonias pequeñas con morfología masiva que no superan los 15 cm de altura (Halfar *et al.*, 2005).

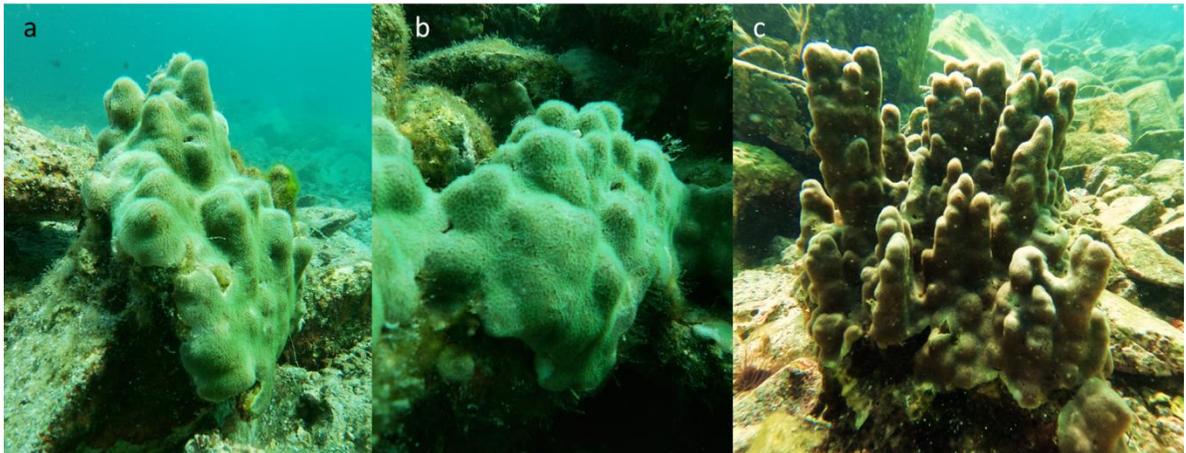


Figura 3. Morfología de colonias del coral *Porites panamensis*: subcolumnar (a), incrustantes (b), columnares (c).

2.3 Recolecta de muestras

Se realizaron dos muestreos, el primero en marzo y el segundo en octubre de 2022, con el objetivo de abarcar las condiciones ambientales de invierno y verano a las que están expuestos los corales. Se recolectaron las muestras a través de buceo SCUBA de 5 colonias de *P. panamensis*. En cada sitio, se tomaron colonias con crecimiento columnar y tonos verdes a una profundidad de 2 a 5 m., las colonias se seleccionaron al azar considerando que no presentaran síntomas visibles de enfermedad o blanqueamiento. Por cada colonia de coral se tomaron tres fragmentos de 2-3 cm con cincel y martillo, inmediatamente se colocaron en bolsas de plástico herméticas llenas con agua de mar para ser llevados a superficie. Una vez en superficie, cada fragmento de coral se enjuagó con agua ultrapura para eliminar los microorganismos del ambiente y se colocaron en tubos falcón estériles de 50 ml con etanol al 90% para conservar las muestras. Se mantuvieron a 4°C para su transporte, una vez en laboratorio las muestras se almacenaron a -20 °C hasta su procesamiento en el laboratorio de Genómica Funcional del CICESE.

2.4 Descripción ambiental

La obtención de datos ambientales se realizó mediante la Red mareográfica de CICESE, la cual tiene una estación Mareográfica Meteorológica Costera en BLA que registra datos ambientales constantemente a lo largo del día. Se utilizaron los datos semanales para tener un promedio mensual. Los promedios se analizaron en el programa GraphPad Prism 5, en donde se obtuvieron las desviaciones estándar y se graficaron de los datos.

2.5 Estandarización del protocolo de extracción de ADN

Tabla 1. Pruebas para estandarizar la extracción de ADN

Exp	Lisozima 10 U/ μ L (μ L)	Incubación (min)	Proteínasa K 0.8 mg/mL (μ L)	Incubación con enzimas (hrs)	Perlas (g)		Muestra (g)	Concentración ADN (ng/ μ L)	260/ 280	230/ 260
					Zirconio	Vidrio				
1	0.19	10	25	4	400	400	50	64.7	1.83	1.76
							250	84.9	1.85	1.33
2	0.19	10	25	4	400	400	100	123.9	1.86	2.15
							200	77.8	1.82	1.34
3	0.19	10	25	4	200	200	200	78	1.85	1.78
							250	99.4	1.83	1.34
4	0.19	10	25	4	-	400	200	79.8	1.88	0.68
							250	87.9	1.74	1.3
5	0.19	10	25	12	400	400	200	61.5	1.68	1.06
							250	65.7	1.84	1.85
6	0.19	10	25	12	200	200	200	13.5	1.93	1.61
							250	72.7	1.87	2.1
7	0.20	20	30	4	-	400	70	100.3	1. 85	2. 49

Con el objetivo de aumentar el rendimiento de las extracciones y la calidad de ADN, se realizó una estandarización del protocolo. La estandarización se realizó basada en el protocolo de extracción de ADN establecido por el kit DNeasy PowerSoil Pro (Qiagen, Hilden, Germany) con las modificaciones realizadas en el protocolo utilizado por Sunagawa *et al.* (2010), ya que es un protocolo que busca aumentar el rendimiento y la calidad de las preparaciones de ADN específicamente de corales. Además, se incluyeron las modificaciones del protocolo de Reigel *et al.* (2021), el cual se modificó para extracciones de *P. panamensis* específicamente (Anexos). Este enfoque combinado busca optimizar el procedimiento para obtener resultados más eficientes y precisos en el análisis de ADN.

2.6 Extracción de ADN

Con el fin de identificar las muestras, se implementó un sistema de codificación. Este código está construido por la especie con la que se está trabajando *Porites panamensis*: PP, la temporada del año a la que corresponden invierno: W y verano: S, el año en el que fueron tomadas las muestras 2022: 22, el sitio al que corresponden: sitio protegido: S1, sitio expuesto: S2, la colonia a la que corresponden C1 – C5 y finalmente la réplica separada por un guion bajo (“_”). Por ejemplo, si tenemos una muestra procedente de la especie "Porites panamensis", tomada en invierno (W) del año 2022 (22), en el sitio protegido (S1), y perteneciente a la colonia C3, con tres réplicas distintas (_1, _2 y _3), el código de esta muestra sería: PPW22S1C3_1, PPW22S1C3_2 y PPW22S1C3_3, respectivamente.

Para la extracción de ADN de muestras coralinas, se drenó el exceso de etanol de las muestras almacenadas a -20° C, los fragmentos se lavaron 3 veces utilizando agua miliQ estéril, se volvieron a fraccionar hasta tener aproximadamente 1cm de coral para finalmente pulverizarlo con un mortero y pistilo estériles. La muestra pulverizada se transfirió a un microtubo de 1.5 mL y se terminó de homogeneizar el tejido con ayuda de un pistilo de teflón estéril. Se pesaron entre 50 y 70 mg de la muestra compuesta por una combinación de mucus, tejido y esqueleto (Figura 1 Anexos). Para evaluar posibles problemas de contaminación se utilizó un control negativo por cada extracción. Este proceso consistió en utilizar un tubo extra por cada extracción al cual no se le agregaba material genético, pero se realizaba el mismo procesamiento que a las demás muestras. Finalmente, la concentración de ADN se cuantificó mediante un espectrofotómetro NanoDrop Lite (Thermo Fisher Scientific).

2.7 Amplificación de ADN

La preparación de bibliotecas se realizó según el protocolo de preparación B de bibliotecas de secuenciación metagenómica MiSeq 16S (Illumina, San Diego, CA, Estados Unidos), con modificaciones según los primers respectivos. Junto con las muestras, se realizaron dos “pools” (mezcla de material genético) utilizando las muestras negativas (C-) de las extracciones correspondientes a las temporadas de invierno y verano y se utilizaron para monitorear contaminación cruzada en las amplificaciones.

Se realizaron dos Reacciones en Cadena de la Polimerasa (PCR). La primera PCR se realizó con la enzima KAPA HiFi HotStart (Thermo Fisher Scientific), con la que se amplificó la región V4 del gen 16S rRNA utilizando los primers 515F (Parada *et al.* 2015)–806R (Aprill *et al.* 2015) ya que actualmente son los más

utilizados para analizar la diversidad taxonómica de bacterias y arqueas en corales (Tabla 2) (Maher et al., 2020; Neave et al., 2016a; Reigel et al., 2021). Los productos de PCR se visualizaron en un gel de agarosa al 1.5% y luego se utilizaron perlas Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, Brea, CA, Estados Unidos) para purificar el amplicón 16S V4. Para la segunda PCR de indexado se utilizó KAPA HiFi HotStart ready Mix (Thermo Fisher Scientific). Los índices de secuenciación de Illumina se incorporaron para la indexación dual con el kit de índices Nextera XT de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las bibliotecas se cuantificaron con un ensayo Qubit dsDNA High Sensitivity en un fluorómetro Qubit 3.0 (Thermo Scientific, Waltham, MA, Estados Unidos).

Tabla 2. Programa utilizado para la primera PCR.

Temperatura	Tiempo
95°C	3 min
25 ciclos de:	
95° C	30 seg
55° C	30 seg
72° C	30 seg
72 ° C	5 min

Para la segunda PCR se utilizó el mismo programa, pero sólo con 8 ciclos. Cada biblioteca se normalizó a 40 nM y luego se agruparon en una muestra que se diluyó a 4 nM para generar lecturas pareadas de 250 pb en una plataforma MiSeq (Illumina, San Diego, CA, EE. UU.) en el CICESE.

2.8 Análisis bioinformático

El análisis de la secuenciación de amplicones de la región V4 del gen 16S ARNr se basa en el uso de software y algoritmos para eliminar el ruido, fusionar, agrupar y asignar taxonomía a las secuencias. Convirtiendo los datos de secuenciación en resultados biológicamente significativos.

2.8.1 Control de calidad

Los archivos FASTQ obtenidos de la secuenciación se analizaron con FastQC (v. v0.11.7)(Andrews, 2019) donde se generaron informes que contienen métricas de calidad, gráficos, alertas sobre posibles

problemas y el contenido de adaptadores en las secuencias. Posteriormente se utilizó MultiQC (v. 1.13.dev0)(Ewels et al., 2016) para generar un informe global que permitió comparar y analizar conjuntamente las métricas de calidad de todas las muestras. La precisión de la secuenciación se evaluó mediante el score de calidad de Phred (Q score) proporcionada para cada nucleótido. Con base en los informes obtenidos, se realizó el recorte de adaptadores y primers utilizando Cutadapt (v. 4.2)(Martin, 2011). Después de esto, se volvieron a visualizar las muestras utilizando FastQC y MultiQC, para evaluar la calidad de las secuencias después del recorte y los cambios en las métricas de calidad.

2.8.2 Procesamiento en DADA2

Los archivos resultantes se analizaron con “DADA2” (1.26.0) en R (4.2.2). Se establecieron parámetros para hacer un corte y filtrado de calidad. La calidad mínima requerida en cada posición de la secuencia fue de 5, la tasa máxima de errores fue de 2/2, la longitud mínima que debían tener las secuencias para ser consideradas en el análisis fue de 150 pb. También se estableció el valor mínimo para que se realizara la fusión de secuencias forward (F) que van en sentido 5'-3' y reverse (R) que van en sentido 3' -5'. El algoritmo de DADA2 utiliza un modelo de tasas de error para estimar y corregir las posibles inconsistencias en las secuencias.

Se dereplicaron las muestras, lo que implica disminuir la redundancia de secuencias idénticas. Después mediante un proceso de “denoising” se realiza la inferencia de las secuencias biológicas iniciales. Se lleva a cabo la fusión de secuencias F y R para obtener las secuencias completas de los amplicones. Se identificaron y eliminaron quimeras. Se calculó la longitud final de Variantes Únicas de Amplicón o ASVs por sus siglas en inglés (secuencia biológica inicial). Después de este procesamiento, se obtuvo una tabla de abundancias de lecturas de cada ASV en cada muestra.

2.8.3 Asignación taxonómica

La asignación taxonómica se realizó utilizando la función “assignTaxonomy” perteneciente a DADA2. Y tomando como referencia la base de datos SILVA v 138 para bacterias y arqueas (McLaren & Callahan, 2021), abarcando desde el nivel de dominio hasta el de género. Se procedió a la eliminación de ASV con identificaciones diferentes a bacterias y arqueas, así como a un filtrado basado en la longitud de las secuencias (min:250 pb, max:260 pb). Una vez obtenidas las ASV's finales, se realizó el alineamiento de

secuencias y construcción de un árbol filogenético con las paqueterías “DECIPHER” (v 2.26.0) en R y “FastTree” (v. 2.1.11), respectivamente (M. N. Price et al., 2010). El árbol, las secuencias de ASVs y la tabla de abundancias se usaron para formar un objeto phyloseq que permite realizar un manejo integral de los datos y aplicar análisis que toman en cuenta la información filogenética

2.8.4 Estandarización de datos

Para evaluar el esfuerzo de secuenciación se realizó una curva de rarefacción utilizando la función “rarecurve” del paquete vegan. Basándonos en los resultados de este análisis, se probaron varios valores para realizar un submuestreo aleatorio en donde se incluyeran la mayor cantidad de colonias por sitios y temporadas. Se colapsaron las réplicas de cada colonia y se hizo una estandarización de las muestras a un número de reads específico (31000) con la función “rarefy_even_depth” del paquete Phyloseq. Posteriormente se agruparon las secuencias según su identificación taxonómica (dominio, filo, clase, orden, familia y género), para conocer la abundancia relativa de microorganismos.

2.9 Análisis ecológico

2.9.1 Diversidad del microbioma coralino

Se describió la comunidad de bacterias y arqueas a nivel filo, familia y género. La diversidad alfa se calculó mediante el índice de Shannon, el cual proporciona una métrica numérica que refleja la diversidad dentro de una muestra y se relaciona con la presencia de diferentes especies. Los valores en este índice comienzan en cero y su valor aumenta con el número de especies presentes en la muestra (Kim et al., 2017). También se calculó la diversidad filogenética de Faith (PD), la cual es una medida cuantitativa de diversidad filogenética, que se define como la longitud total de las ramas del árbol filogenético que abarca una muestra (Faith & Baker, 2006). Cuando los valores de PD aumentan, corresponden a una mayor diversidad. Después de verificar la normalidad y homocedasticidad de los datos de ambos índices, se realizó análisis de varianza (ANOVA) de dos vías (Sitio y Temporada) para saber analizar el efecto del sitio y la temporada, así como la interacción entre ellos, en la diversidad alfa de las colonias.

2.9.2 Comparación de la composición microbiana entre sitio y temporadas

Con el árbol filogenético construido, se calcularon las distancias UniFrac (Lozupone & Knight, 2005), un método que mide la distancia filogenética única entre conjuntos de taxones en un árbol filogenético y puede utilizarse para determinar si las comunidades son significativamente diferentes, comparar muchas comunidades simultáneamente y para medir las contribuciones relativas de diferentes factores a las similitudes entre muestras (Lozupone & Knight, 2005). Se utilizó la distancia UniFrac ponderada en donde se toma en cuenta la distancia filogenética y la abundancia relativa de las secuencias en las muestras para realizar un análisis de coordenadas principales (PCoA) con el propósito de comparar las comunidades de cada sitio y temporada. Finalmente, se verificó la normalidad y homocedasticidad de los datos para realizar un PERMANOVA, de dos factores (Sitio y Temporada) para ver sus efectos en la variación de la estructura de la comunidad microbiana. Se estableció el número de permutaciones en 9999 para obtener resultados robustos y se utilizó un alfa de 0.05.

Capítulo 3. Resultados

3.1 Descripción ambiental

El estudio realizado en el transcurso del 2022 tomó en cuenta dos temporadas ambientales contrastantes a lo largo del año, para observar el comportamiento del microbioma en los extremos de temperatura presentes en BLA (Figura 4). Las muestras se recolectaron a una temperatura de 15°C en marzo (azul) perteneciente a la estación fría, las muestras de la estación cálida se tomaron a 27° C en octubre (rojo).

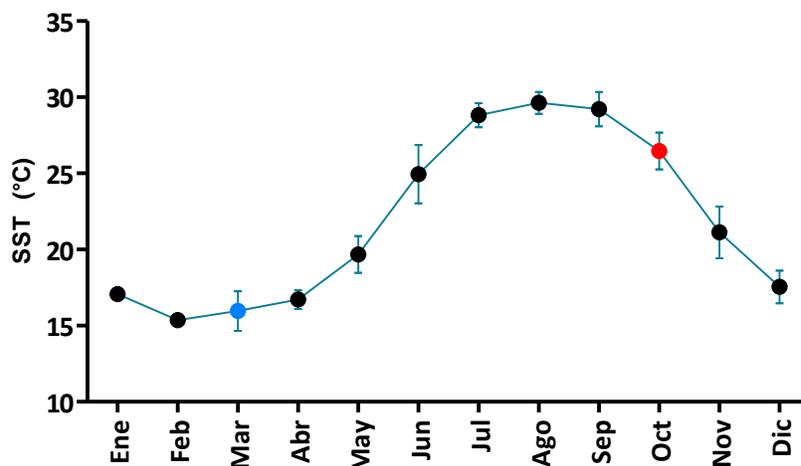


Figura 4. Datos satelitales de temperatura Superficial del Mar mensual promedio en el año 2022 en BLA con desviación estándar. Azul: toma de muestras correspondientes a la temporada de invierno, rojo: toma de muestras correspondientes a verano.

3.2 Extracción de ADN

Las concentraciones mayores de ADN se obtuvieron en las muestras recolectadas en la temporada de verano. En conjunto, las tres réplicas de colonia con concentración mayor fue PPS22S1C5 con valores de 330.10, 113.40 y 404.80 ng/ μ L. Por otro lado, la colonia con concentraciones más bajas fue PPW22S2C3 con valores de 15, 27.7 y 3.6 ng/ μ L, por lo que se hizo una repetición de la extracción de estas colonias obteniendo valores de 50, 65.3 y 89.6 ng/ μ L para asegurar que hubiera suficiente material genético para las amplificaciones.

Durante el proceso de extracción, se pudo observar la presencia de daño interno (Figura 4) y cambios de coloración en algunos fragmentos, así como la presencia de almejas, algas y poliquetos en algunas muestras. En particular, las muestras asociadas a la colonia PPW22S2C3 se destacaron por su apariencia más blanca, textura más dura y presencia de almejas. Sin embargo, al momento de hacer las extracciones se evitaron las zonas dañadas o en contacto con otros organismos y las concentraciones de ADN de las muestras procesadas no mostraron una relación con la presencia de daños o alteraciones internas.

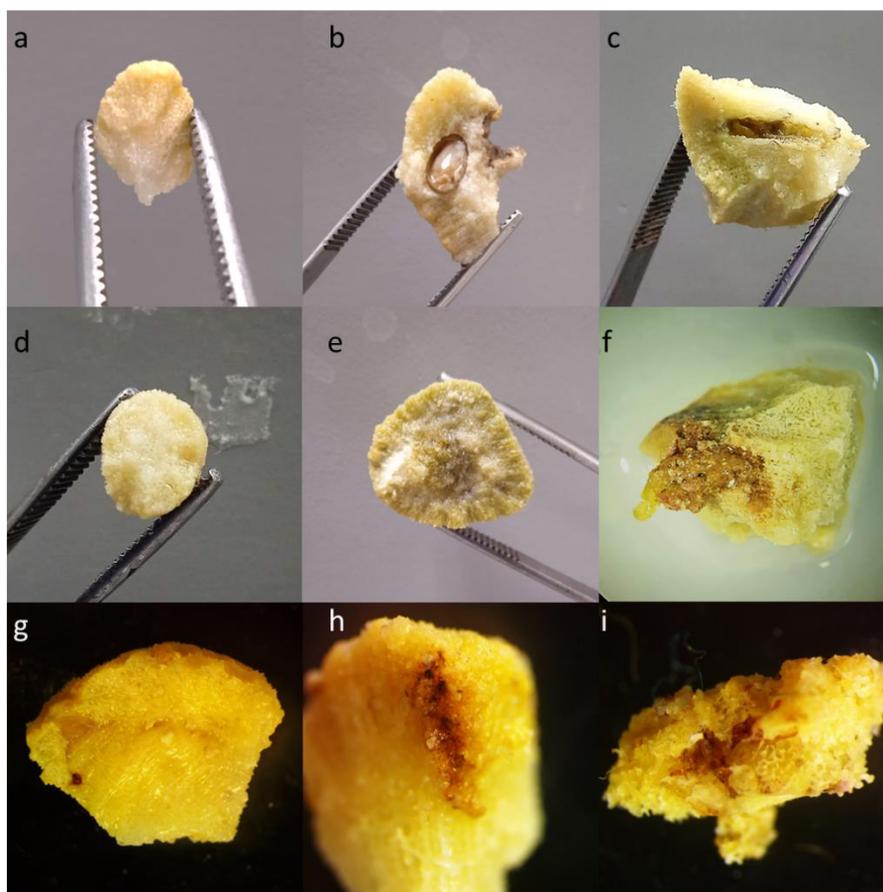


Figura 5. Daño interno corales. a: coral sin daño interno, b: coral con almeja, c: coral con túnel de poliqueto, d: coral sin daño, e: coral con daño interno, f: coral contaminado con material orgánico desconocido, g: coral sin daño, h: coral con daño interno, i: coral con alga

Los valores de la relación 260/280 se encontraron entre 2.5 y 1.6, lo que indica una posible contaminación de las muestras por compuestos aromáticos como fenoles y proteínas en algunas muestras. La mayoría de las muestras tuvo valores menores a 1 en la relación 230/260 lo que indica que podría haber algún tipo de contaminación con sales, fenoles o carbohidratos (Tabla 2. Anexos). Al comparar los resultados de concentración de ADN de los controles negativos con las muestras se corroboró que no hubo

contaminación cruzada durante la extracción de ADN en las muestras. Esto también pudo observarse en geles por medio de electroforesis, donde se observan bandas tenues de 254 pb o ausencia total de ellas (Figura 6 y 7).

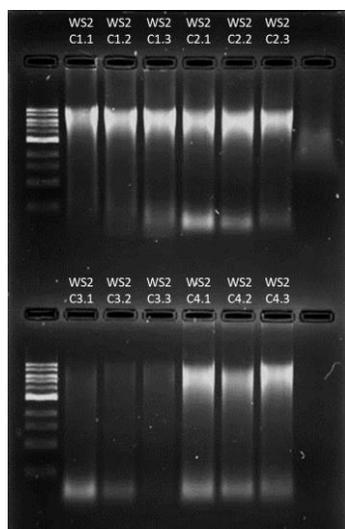


Figura 6. Gel representativo de las extracciones de DNA

3.3 Verificación de la presencia de material genético bacteriano

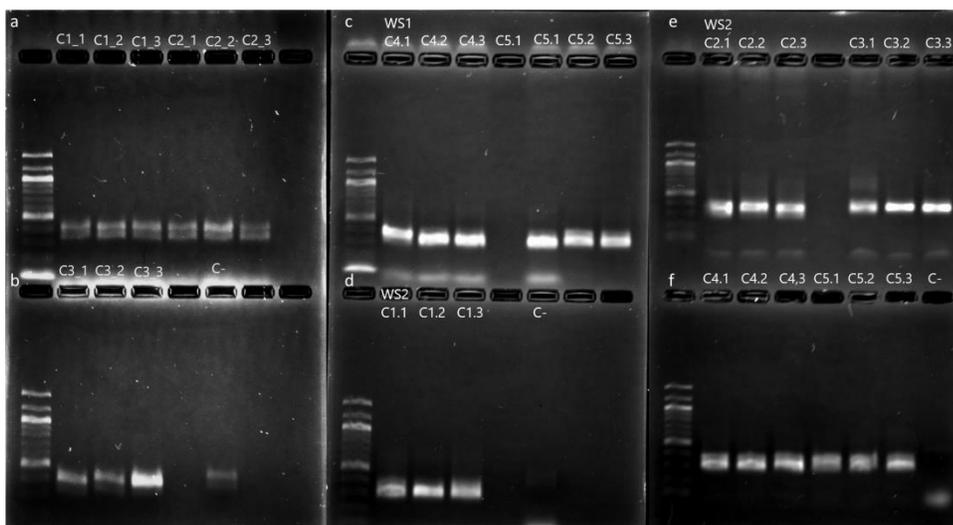


Figura 7. Geles de agarosa al 1.5% con fragmento correspondiente a la región V4 gen 16S ARNr de las amplificaciones de muestras de invierno. En la primera columna de cada gel se observa la escalera de 100 pb, posteriormente se observan las muestras del sitio 1: a-c y Sitio 2: d-f, con los controles negativos (C-) de cada extracción.

Se realizó una PCR preliminar con el propósito de verificar la amplificación del fragmento deseado en las

muestras seleccionadas mediante el uso de los primers 515F-806R. Los resultados se analizaron en geles de agarosa al 1.5%, donde se pudo observar la presencia de un fragmento de aproximadamente 300 pb. Esto confirmó la amplificación del fragmento de interés (Figura 7 y 8). Sin embargo, las muestras PPW22S1C1_2 y PPW22S2C4_3 no lograron amplificarse.

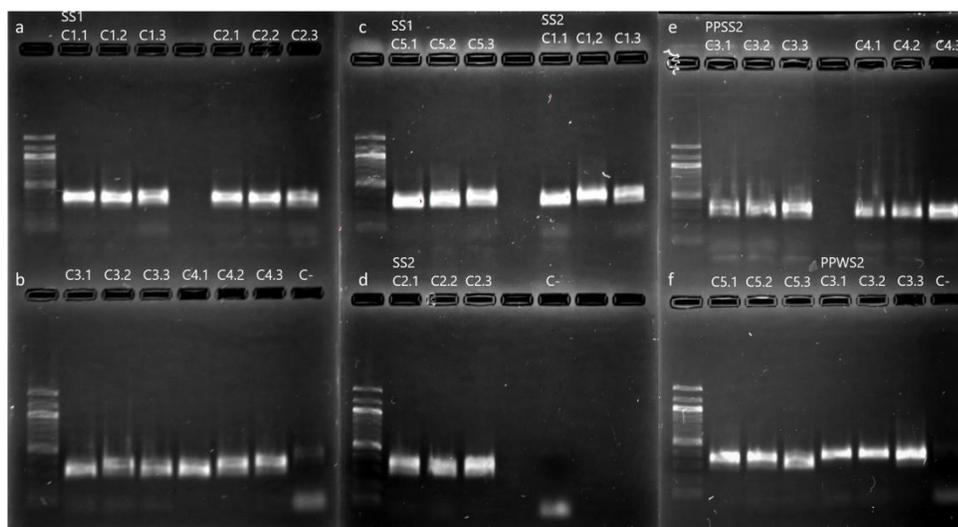


Figura 8. Geles de agarosa al 1.5% con fragmento correspondiente a la región V4 gen 16S ARNr de las amplificaciones de muestras de invierno. En la primera columna de cada gel se observa la escalera de 100 pb, posteriormente se observan las muestras del sitio 1: a-c y Sitio 2: d-f, con los controles negativos (C-) de cada extracción.

3.4 Secuenciación y análisis bioinformático

3.4.1 Control de calidad

El análisis mediante Fastqc y MultiQC, arroja gráficos que brindan información sobre la calidad y la integridad de los datos obtenidos de cada read (secuencia obtenida por el proceso de secuenciación). En la gráfica "Puntuación de calidad media" (Figura 9a) se observan los puntajes de calidad de cada par de base (pb) asignado, correspondientes a 60 muestras cada una con una read forward (F) y un reverse (R) para cada muestra. Sesenta y una muestras presentaron buena calidad, mientras que 55 se clasificaron con calidad media y 4 mostraron calidad baja. En la gráfica también pueden observarse una caída en la calidad al final de las secuencias ya que se a medida que avanza la secuenciación aumenta la probabilidad de errores.

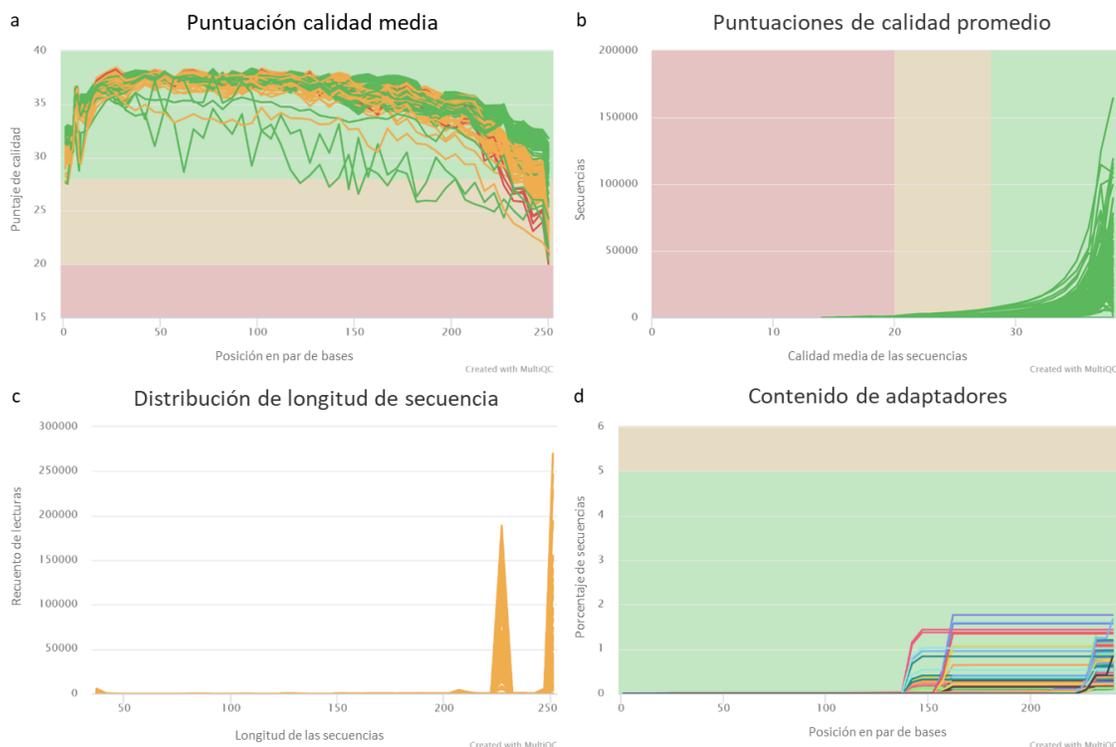


Figura 9. Análisis de calidad de secuencias mediante Multiqc antes del procesamiento. a: Calidad promedio de secuencia base, b: Puntuaciones de calidad promedio por secuencia, c: Distribución de longitud de secuencia, d: Contenido de adaptadores.

La gráfica "Puntuaciones de calidad promedio"(Figura 9b) permite ver el promedio de calidad de la asignación de pb por read en 37 y 38 del puntaje de calidad. Esta tendencia corroboró que la asignación de pb en la secuenciación tiene una buena calidad. Se observaron dos longitudes predominantes en las secuencias, la gráfica "Distribución de longitud de secuencia" (Figura 9c) muestra dos picos en longitudes de 227 y 251 pb. En la gráfica "Contenido de adaptadores"(Figura 9d) se observan muestras con $\geq 0,1\%$ de contaminación por adaptadores añadidos durante la amplificación. Se muestra la presencia de adaptadores de tipo illumina universal adapter, illumina small rna 3' y nextera transposase. Para abordar esto, se hizo un corte de adaptadores y primers utilizando la herramienta Cutadapt. Se recortaron las secuencias correspondientes a los adaptadores mencionados y a los primers 515F-806R utilizados en la amplificación.

Posterior al corte, en los puntajes de calidad de cada pb (Figura 10a) 58 muestras mantuvieron una calidad alta, 4 presentaron calidad media y 58 exhibieron calidad baja. Es importante destacar que todos los reads de baja calidad correspondieron al sentido R. Además, se observa que la caída en la calidad al final de la secuencia es menor debido al corte de adaptadores y primers. El promedio de calidad de la asignación de

pb por read se mantuvo en valores de 37 y 38, por lo que asumimos que no se perdió calidad después del corte (Figura 10b).

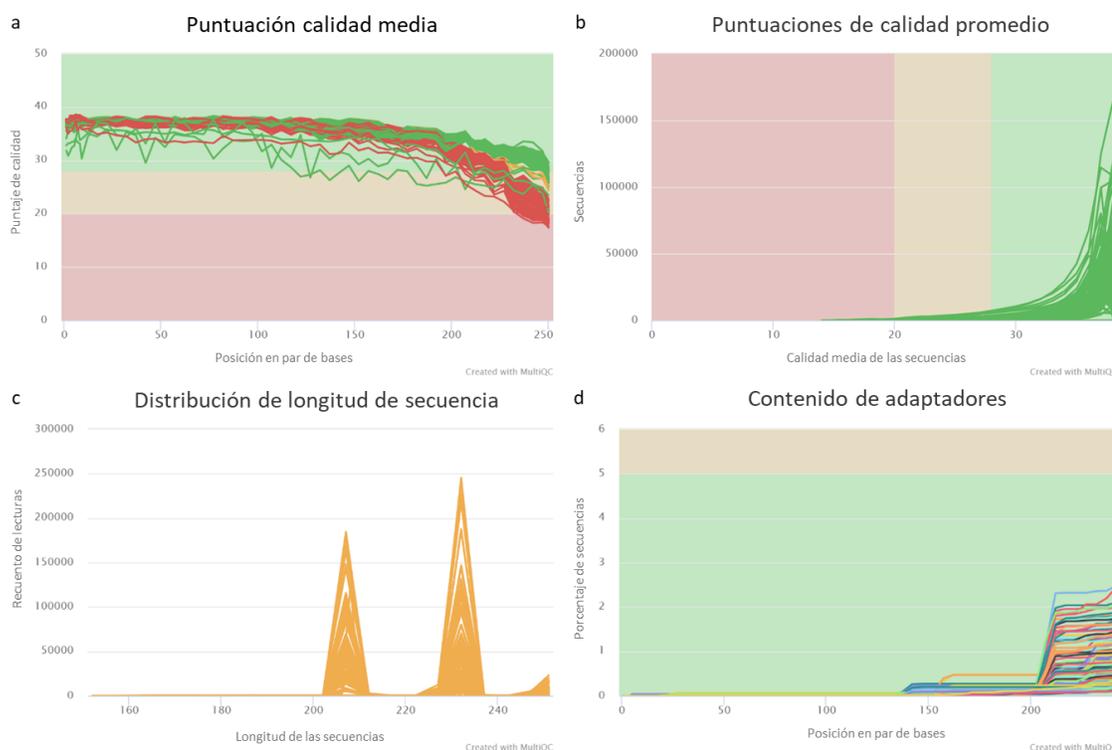


Figura 10. Análisis de calidad de secuencias mediante Multiqc después del procesamiento. a: Calidad promedio de secuencia base, b: Puntuaciones de calidad por secuencia, c: Distribución de longitud de secuencia, d: Contenido de adaptadores.

Los picos en la longitud de las secuencias (Figura 10c) cambiaron a 207 y 232 pb debido al corte. A pesar de los esfuerzos de corte de adaptadores y primers, hay una presencia residual de nextera transposase (Figura 10d). Por lo que se llevó a cabo una revisión manual de las secuencias, donde se identificaron fragmentos con una longitud menor a 10 pb en la mitad de las secuencias. Cabe mencionar que una vez que una secuencia es detectada en una read, esta se considera presente hasta el final del read. Tomando en cuenta esta consideración, el análisis prosiguió con miras a obtener resultados coherentes y fiables en el estudio.

3.4.1 Procesamiento en DADA

Se realizó una segunda visualización de la calidad de las secuencias en DADA2. Se eliminaron las secuencias demasiado cortas y las lecturas de baja calidad con el que logramos retener en promedio el 90% de las

secuencias. Posteriormente se visualizaron las tasas de error (Figura 11). Donde podemos observar que los puntos representan las tasas de error observadas para diferentes niveles de calidad de consenso. Una línea negra muestra las tasas de error estimadas y la línea roja refleja las tasas de error esperadas según el valor de calidad. Cada panel en el gráfico nos indica la frecuencia de error de nucleótido a nucleótido para todas las combinaciones.

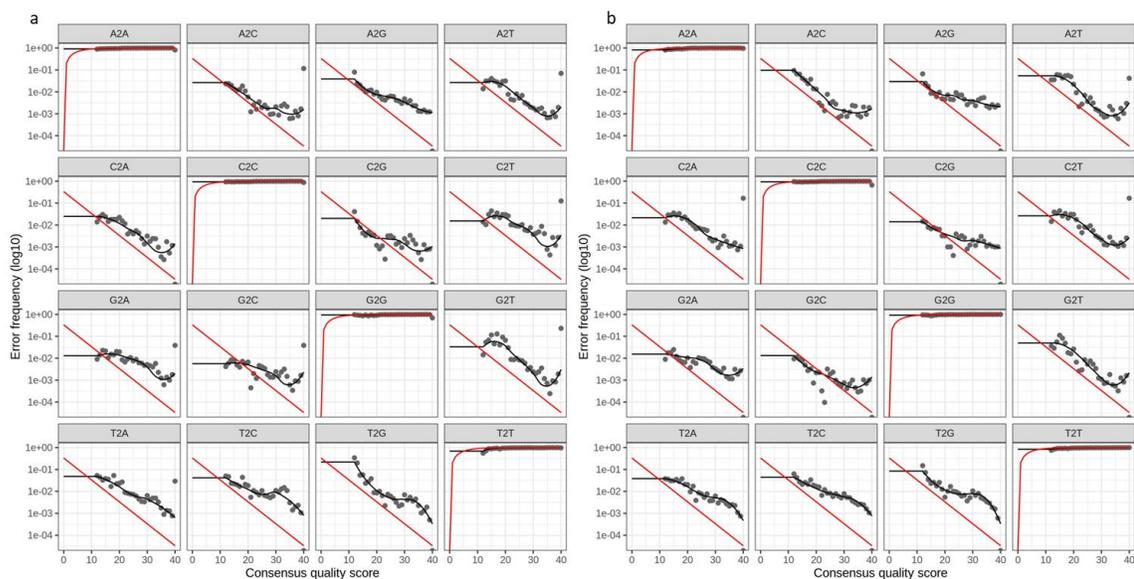


Figura 11. Tasas de error. a: read forward b: read reverse

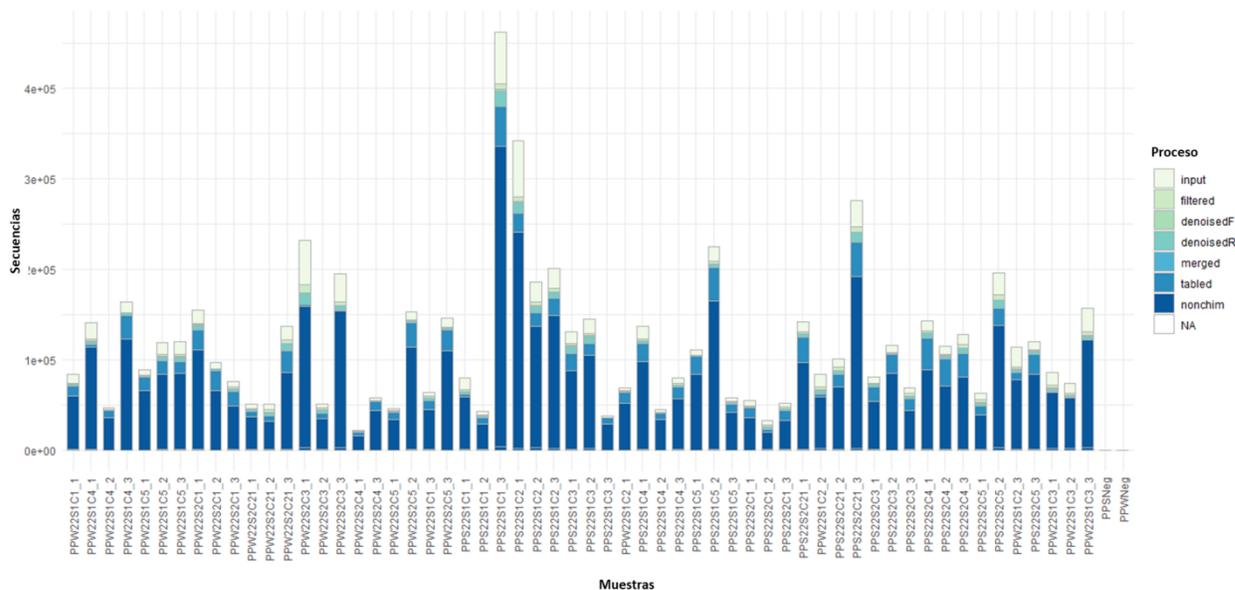


Figura 12. Recuento de reads a través del procesamiento en DADA2

Después de realizar la dereplicación, el proceso de denoising y la unión de los reads F y R, se corroboró que la longitud de las ASV obtenidas se mantuviera dentro del rango anticipado para el amplicón. Se identificó y eliminó un 12.8 % de quimeras. Al final de este procesamiento se realizó un recuento de lecturas a través del procesamiento (Figura 12), donde observamos que las muestras conservaron la mayoría de los reads con los que empezaron el análisis. Los controles negativos mostraron una cantidad muy reducida de reads, lo que indica que no hubo contaminación cruzada durante el proceso de extracción y amplificación de las muestras.

3.4.2 Asignación taxonómica y normalización de datos

Se generaron un total de 29,418 ASV. De estas, se eliminaron aquellas que se identificaron dentro del dominio Eucariota lo que representó el 37.36% del total (Tabla 1 ANEXOS). Luego, se aplicó un filtro de longitud de secuencia, resultando en un conjunto final del 60.2% de los ASV originales.

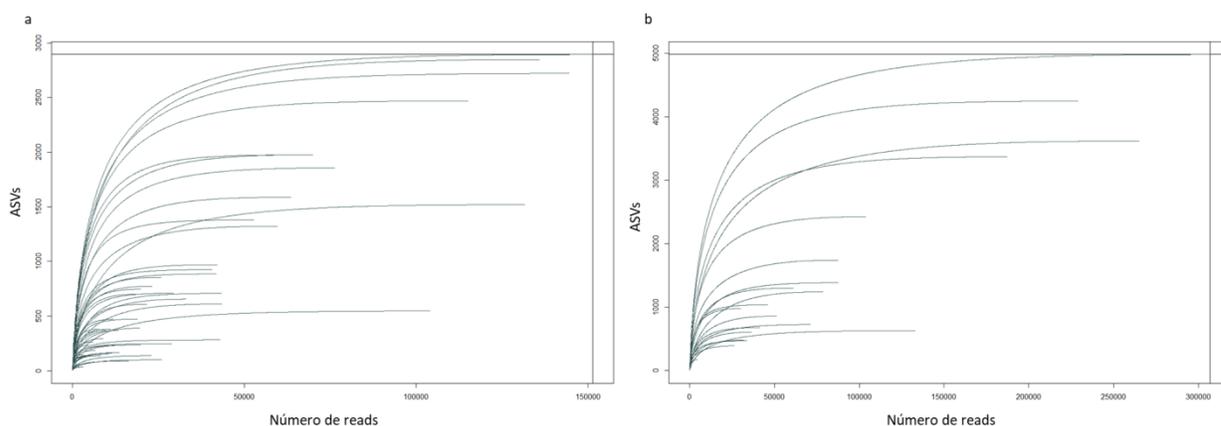


Figura 13. Curvas de rarefacción. a: Cantidad de secuencias por muestra secuenciada. b: Cantidad de secuencias después consolidar las repeticiones.

Durante el proceso de rarefacción, se observaron diferencias en el esfuerzo de secuenciación entre muestras, con un rango de 365 secuencias hasta un máximo de 151,333 secuencias por muestra (Figura 13, a). Los triplicados por colonia se consolidaron, teniendo un mínimo de 4,228 secuencias y un máximo de 306,993 secuencias por colonia (Figura 13, b). Se estableció un valor de submuestreo de 31,000 secuencias, con lo que se descartaron 3 colonias: PW22S2C4, PS22S2C1 Y PS22S1C5. De este modo, se obtuvo un conjunto final de 17 muestras que representan cuatro colonias de S1 y S2 en verano, cuatro del

S1 en invierno y cinco de S2 en invierno. Este conjunto se utilizó para llevar a cabo la descripción y comparación de la comunidad de bacterias y arqueas coralinas.

3.5 Análisis ecológico

3.5.1 Descripción de la comunidad microbiana

Tabla 3. Bacterias y Arqueas registradas con mayor abundancia relativa.

Dominio	Filo	Orden	Familia	Género	Abundancia relativa	Función	Referencia
Bacteria	Bacteroidota	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	NA	10.335	Bacterias oportunistas	(Glasl et al., 2019)
Bacteria	Proteobacteria	Puniceispirillales	SAR116 clade	NA	8.736	Ciclo del azufre	(Roda-García et al., 2021)
Bacteria	Bacteroidota	Chlorobiales	Chlorobiaceae	Prosthecochloris	6.549	Fotosintetizador	(Nie et al., 2023)
Bacteria	Proteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	NA	6.368	Oxidación de sustancias inorgánicas, posible utilización de urea para facilitar la calcificación del esqueleto	(Luo et al., 2021)
Archaea	Crenarchaeota	Nitrosopumilales	Nitrosopumilaceae	Candidatus Nitrosopumilus	5.211	oxidante de amoníaco	(Huggett & Apprill, 2019b)
Bacteria	Proteobacteria	Xanthomonadales	NA	NA	3.194	Susceptibles a perturbaciones, enfermedades o cambios ambientales	(Cárdenas et al., 2011; Shiu et al., 2017)

Los resultados del análisis taxonómico muestran que la comunidad microbiana asociada a *Porites panamensis* comprende en promedio 93.75% de bacterias y 6.25% de arqueas. 25 filos, los de mayor abundancia relativa fueron Proteobacteria (51.78%), Bacteroidota (22.47%), Crenarchaeota (5.81%) y Planctomycetota (4.56%). Se identificaron 107 familias, siendo Flavobacteriaceae (13.04%), SAR116 clade (8.44%), Rhodobacteraceae (7.99%), Chlorobiaceae (6.36%), y Nitrosopumilaceae (6.04%) las más abundantes. En este nivel taxonómico comenzamos a observar una disminución en la capacidad de identificación, observando que el 24.80% de las familias no lograron identificarse (NA). Dentro de las

familias no identificadas, las bacterias del orden Xanthomonadales estuvieron dentro de las más abundantes (Tabla 2).

Tabla 4. Resultado de la búsqueda en BLAST de las bacterias con mayor abundancia con género no asignado.

Último nivel taxonómico identificado	Bit score	Cobertura (%)	E value	Porcentaje de similitud (%)	BLAST	Abundancia relativa %
Flavobacteriaceae	374	98%	7e-99	93.65	uncultured bacterium	10.33
Gammaproteobacteria	451	100%	3e-12	98.81	uncultured Gammaproteobacteria bacterium	9.60
SAR116 clade	457	100%	7e-12	99.21	uncultured SAR116 cluster alpha proteobacterium	8.74
Rhodobacteraceae	468	100%	3e-12	100.00	Rhodobacteraceae bacterium N04IS3	6.37
Xanthomonadales	435	100%	3e-11	97.63	Dyella sp.	3.19

3.6 Caracterización de la comunidad microbiana entre sitios y temporadas

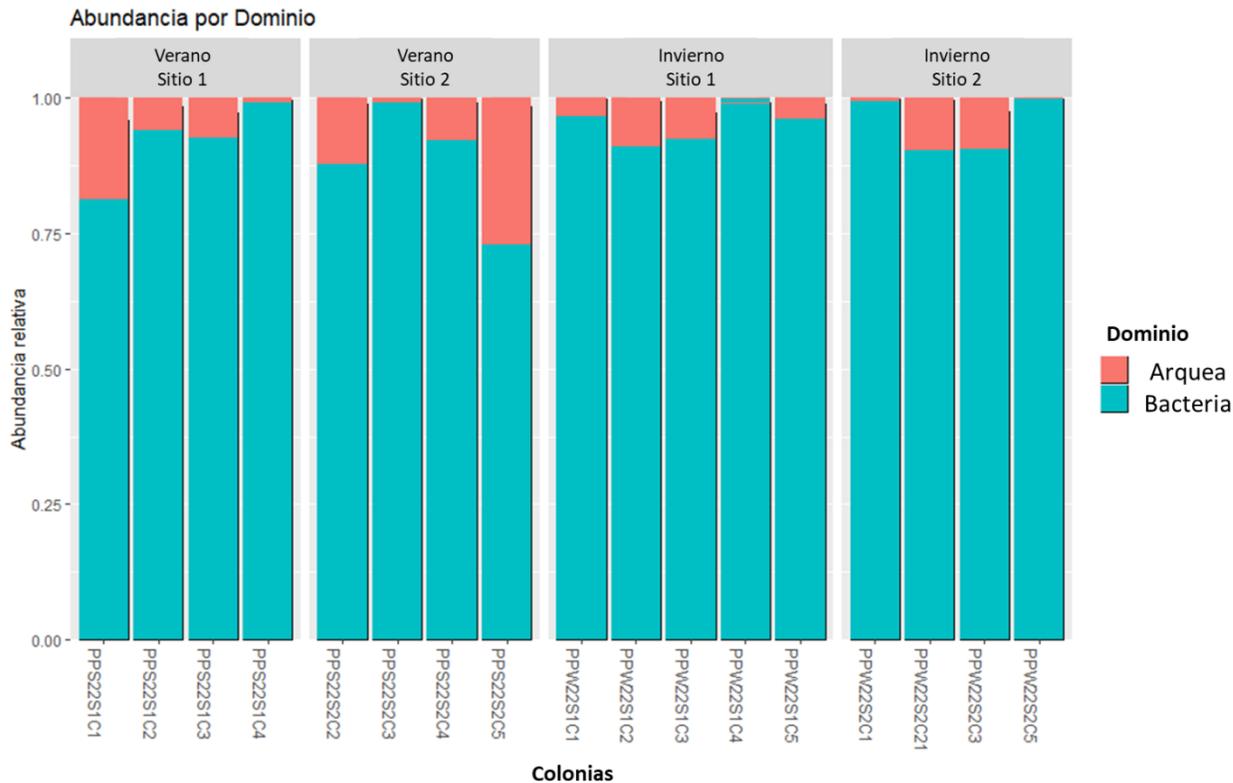


Figura 14. Abundancia relativa de dominios por temporadas y sitios. Sitio protegido: S1, sitio expuesto: S2, colonia C1 – C5

Durante la temporada de invierno, se observó una menor abundancia relativa de arqueas, con los porcentajes más bajos registrados en PPW22S1C4 (0.0005%) y PPW22S1C1 (0.0006%). Por el contrario, en la temporada de verano, se observó una mayor presencia de arqueas, especialmente en PPS22S2C5 (0.25%), PPS22S1C1 (0.14%) y PPS22S2C2 (0.11%) (Fig 14).

En la abundancia relativa por filos, se observó un comportamiento similar en ambas temporadas y sitios. Proteobacteria presentó mayor abundancia relativa, seguido por Bacteroidota y Crenarchaeota. En verano, los niveles de abundancia relativa se mantuvieron estables entre colonias, oscilando entre 43.8% y 68.4%. La menor abundancia relativa de Proteobacteria de la temporada se observó en la C1 del S1, registrando un 34.55% y la mayor abundancia relativa de Proteobacteria se encontró en el S2, específicamente en la colonia 3, con un 74.65%. En esta temporada se observó la menor abundancia de Bacteroidota en la colonia 5 del S2 con 3.99%. Además, se registró la mayor presencia del filo Crenarchaeota en el S2, con los valores de abundancia relativa más altos observados en la colonia 5 (27.69%), seguido por la colonia 1 del S1 (16.13%).

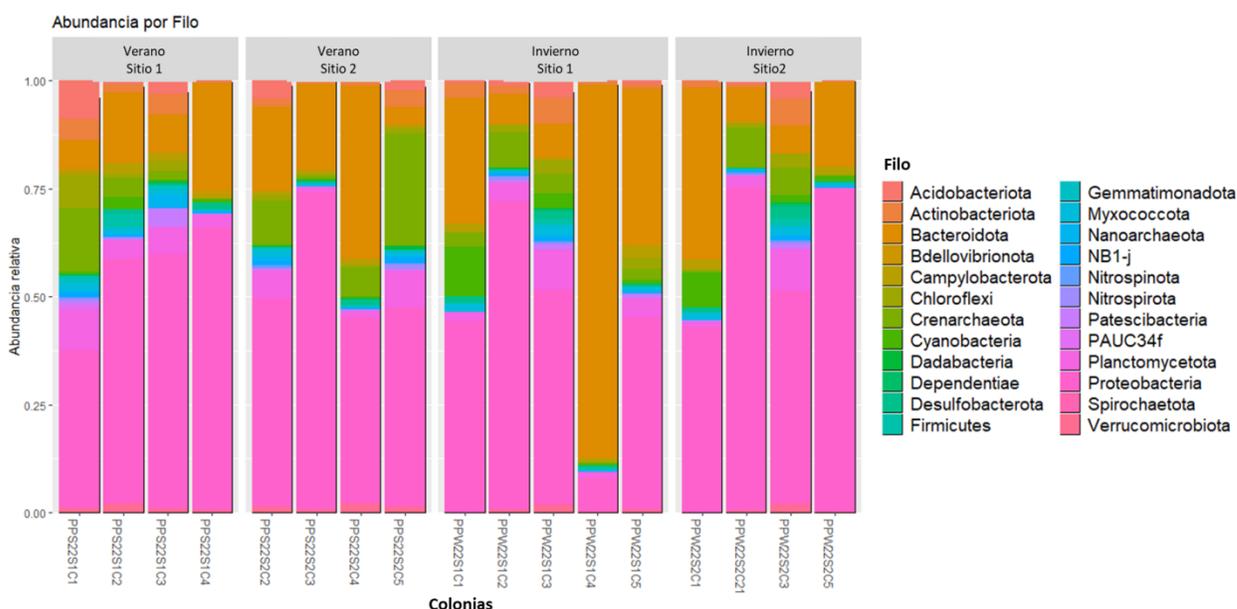


Figura 15. Abundancia relativa de filos por temporadas y sitios. Sitio protegido: S1, sitio expuesto: S2, colonia C1 – C5

Durante la temporada de invierno, se mantuvo un patrón similar con una dominancia del filo Proteobacteria. En el S1, la abundancia relativa de Proteobacteria se mantuvo entre 43.85% y 71.82%, a excepción de la colonia 4, donde la abundancia relativa de Proteobacteria disminuyó a 8.08% y dominó

Bacteroidota con un 87.74%. En el S2, los valores de Proteobacteria oscilaron entre 42.41% y 75.24%. Se observaron valores menores con relación al S1 del filo Bacteroidota con valores de 40.66% a 6.09%. En esta temporada los valores de Crenarchaeota fueron menores con respecto al verano, teniendo un máximo de 9.34% (Fig. 15).

Durante la temporada de verano, Flavobacteriaceae y Rhodobacteraceae mostraron sus valores máximos de abundancia relativa en la C4 del S1, con 40.6% y 40.9%, respectivamente. Nitrosopumilaceae tuvo una mayor abundancia relativa en la C5 del S2, con un valor de 27.69%. La familia no-asignada del filo Gemmatimonadota y SAR116 clade tuvieron un comportamiento similar en ambos sitios teniendo sus valores máximos en el S2. La presencia de Chlorobiaceae (35.3%) fue exclusiva del S2 en esta temporada. La presencia Vibrionaceae fue exclusiva de esta temporada con su valor máximo de abundanciaa (23%) en el S1. Otras familias presentes fueron Kiloniellaceae con un 24% de abundancia relativa, Pirellulaceae con 22.8% y Rhizobiaceae con 19.95% (Figura 14).

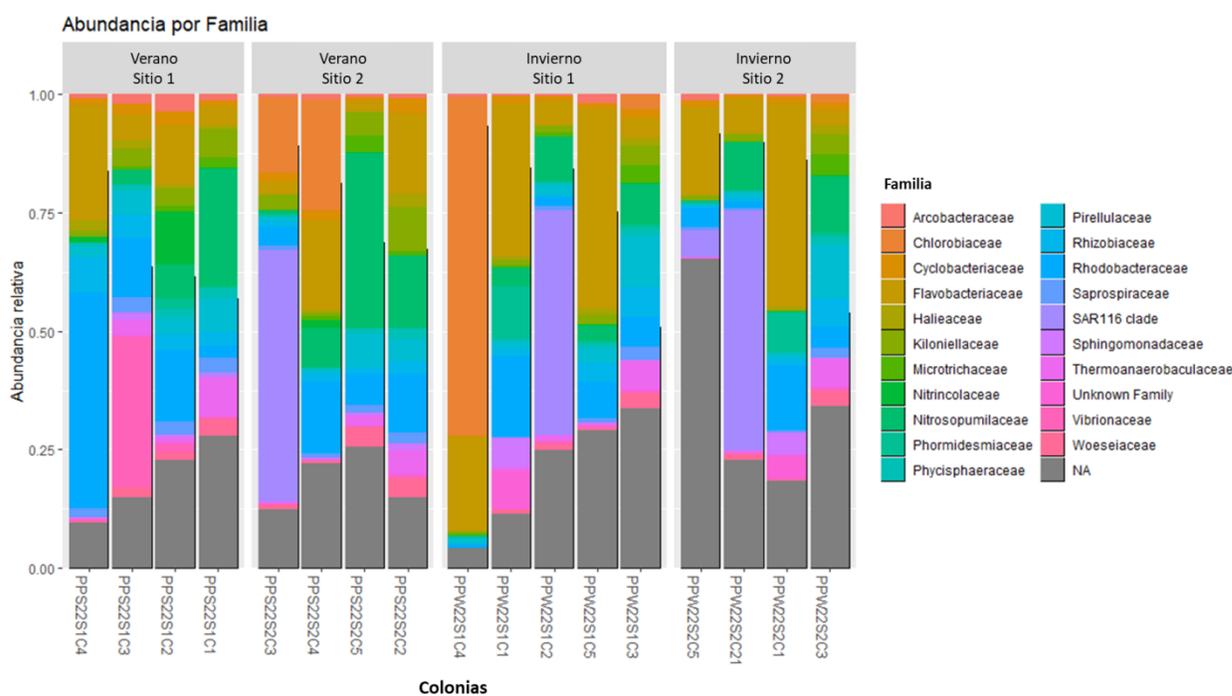


Figura 16. Abundancia relativa de familias por temporada y sitio. Solo se muestran los microorganismos identificados con abundancias mayores al 10%. Sitio protegido: S1, sitio expuesto: S2, colonia C1 – C5

En la temporada de invierno, se observó un predominio de Flavobacteriaceae con un 69.1%, seguido de Chlorobiaceae con un 69% en la C4 del S1. La influencia de estas dos familias en este sitio mostró diferencias visibles en la gráfica de abundancias relativas con respecto a las demás colonias (Figura 14).

SAR116 clade tuvo una predominancia en la C2 del S2 con un 40.8%. En el S2, Flavobacteriaceae fue la que tuvo mayores valores de abundancia relativa con un máximo de 76.1% en la C1. La familia no-asignada del filo Gemmatimonadota fue la que tuvo mayor presencia con un 23.4% en la C5. En la C2, SAR116 clade predominó con un 46.7% de abundancia relativa (Figura 16).

A nivel de géneros, la dominancia fue similar en ambas temporadas. En la temporada de verano, en el S1 el género no asignado de la familia Sphingomonadaceae domino con un valor máximo en la C4 de 39.31%, seguido de un género no asignado del filo Acidobacteriota con un máximo de 10% en la C2. De los géneros sí asignados, *Grimontia* sólo estuvo presente en la C3 con 14.9%. *Candidatus Nitrosopumilus* tuvo una abundancia relativa mayor en la C1 (8.19%) y en la C2 (4.5%). *Aquibacter* tuvo su mayor abundancia de la temporada en la C4 con 8.5%.

En el S2, las mayores abundancias del género no asignado del orden Campylobacterales (14.5%), de la familia Sphingomonadaceae (11%) y del filo Acidobacteriota (16.36%) se registraron en la C4. De los géneros sí asignados, *Candidatus Nitrosopumilus* tuvo su abundancia más alta de la temporada en la C5 con 26.4%, al igual que *Ruegeria* en la C2 con 5.7%, *Woeseia* con 3.2% y *Prosthecochloris* con el 20.4% en la C4 y 14.9% en la C3.

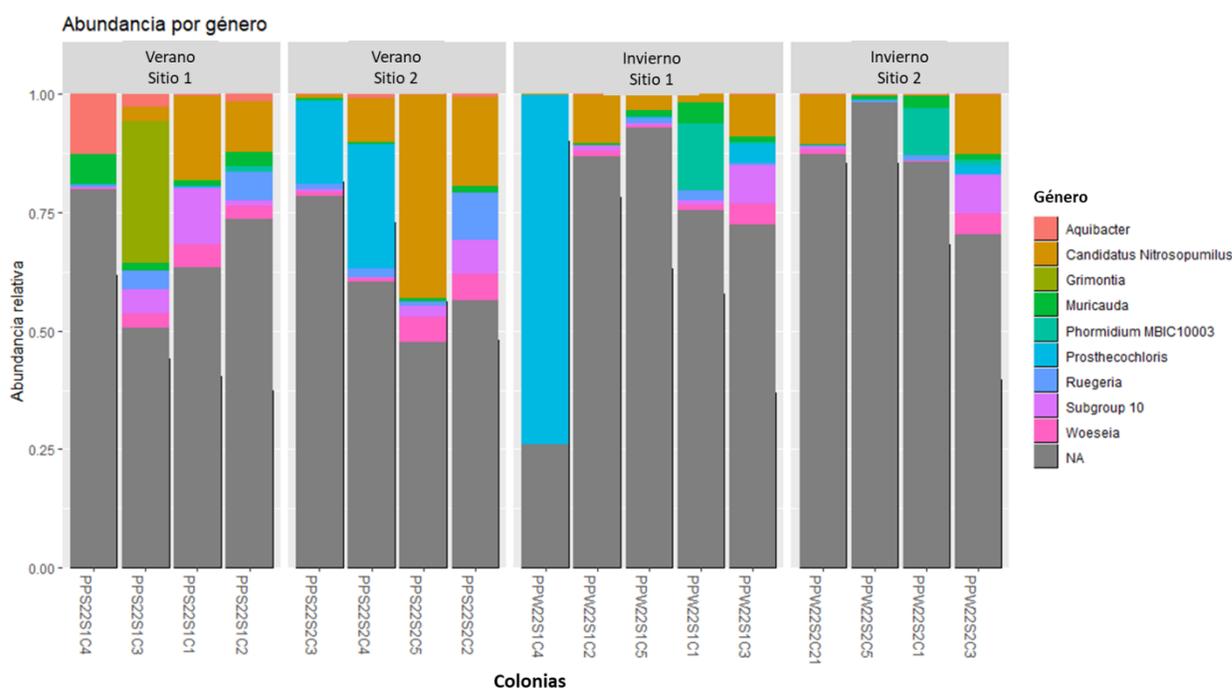


Figura 17. Abundancia relativa de géneros por temporada y sitio. Solo se muestran los microorganismos identificados con abundancias mayores al 10%. Sitio protegido: S1, sitio expuesto: S2, colonia C1 – C5

En la temporada de invierno, en el S1 el género no asignado del orden Campylobacterales dominó sobre todo en la C5 y C1 con 32.2% y 23.7% respectivamente. *Prosthecochloris* tuvo su máximo de la temporada en la C4 con 69%, siendo el género dominante en esta colonia. El género no asignado del orden Verrucomicrobiales estuvo presente sólo en la C2 de este sitio con 40.82% de abundancia relativa, en la C2 *Candidatus Nitrosopumilus* tuvo su abundancia relativa más alta del sitio con 8.3%, al igual que *Phormidium* con 8.77% en la C1.

En el S2, el género no asignado del orden Verrucomicrobiales fue el que tuvo mayor abundancia, teniendo su valor máximo en la C2 con 46.4%. Seguido por el género no asignado del orden Campylobacterales, el cual dominó en la C1. Los géneros no asignados del filo Acidobacteriota (23.4%) y de la familia Phycisphaeraceae (37.55) siguieron en valores de abundancias relativas altas, dominando ambas en la C5. De los géneros sí asignados, *Defluviicoccus* dominó con 15.3% en la C5, seguido por *Candidatus Nitrosopelagicus* con un 9.3% en la C2 y *Phormidium* MBIC10003 con 7% en la C1 (Figura 17).

3.6.1 Diversidad alfa

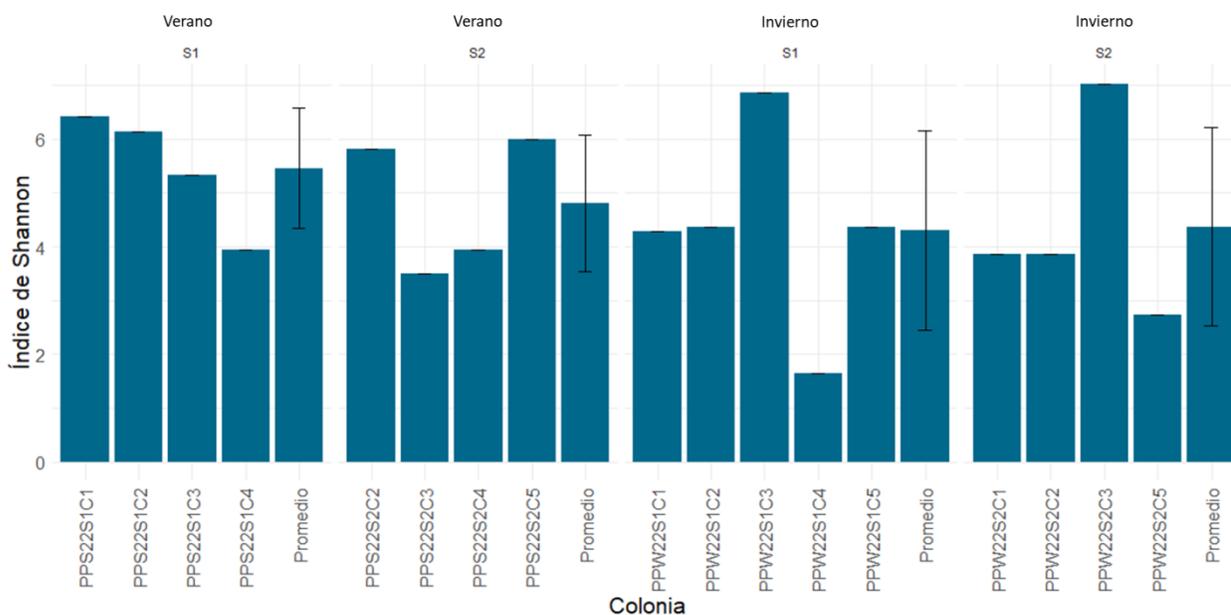


Figura 18. Índice de Diversidad de Shannon por sitios y temporadas. Promedio de cada sitio con desviación estándar (DS).

Los valores del índice de Shannon se comportaron de manera similar en ambas temporadas. Durante la temporada de verano, la diversidad de Shannon promedio fue de 5.46 (SD = 1.11) en el sitio S1 y 4.8 (SD =

1.27) en el sitio S2. En la temporada de invierno, observamos una diversidad de Shannon promedio de 4.3 (SD = 1.85) en S1 y 4.37 (SD = 1.85) en S2 (Figura 18). Al realizar el ANOVA no se encontraron diferencias significativas entre las temporadas ($p = 0.28$), ni entre sitios ($p = 0.76$) (Tabla 5).

Tabla 5. Resultado ANOVA de la diversidad de Shannon entre sitios y temporadas

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F	P
Temporada	1	2.69	2.689	1.209	0.289
Sitio	1	0.23	0.2265	0.095	0.762

Los resultados de PD Faith, mostraron un comportamiento similar al índice de Shannon. En verano el promedio fue de 85.97 (SD = 28.47) en S1 y 86.49 (SD = 18.57) en S2. En invierno se observó un promedio de 70.81 (SD = 30.03) en S1 y 68.84 (SD = 36.44) en S2 del el índice PD Faith (Figura 19). Al realizar el ANOVA no se encontraron diferencias significativas entre las temporadas ($p = 0.236$), ni entre los sitios ($p = 0.958$) (Tabla 6).

Tabla 6. Resultado ANOVA de la diversidad de filogenética de Faith entre sitios y temporadas

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F	P
Temporada	1	1124	1124.5	1.524	0.236
Sitio	1	2	2.3	0.003	0.958

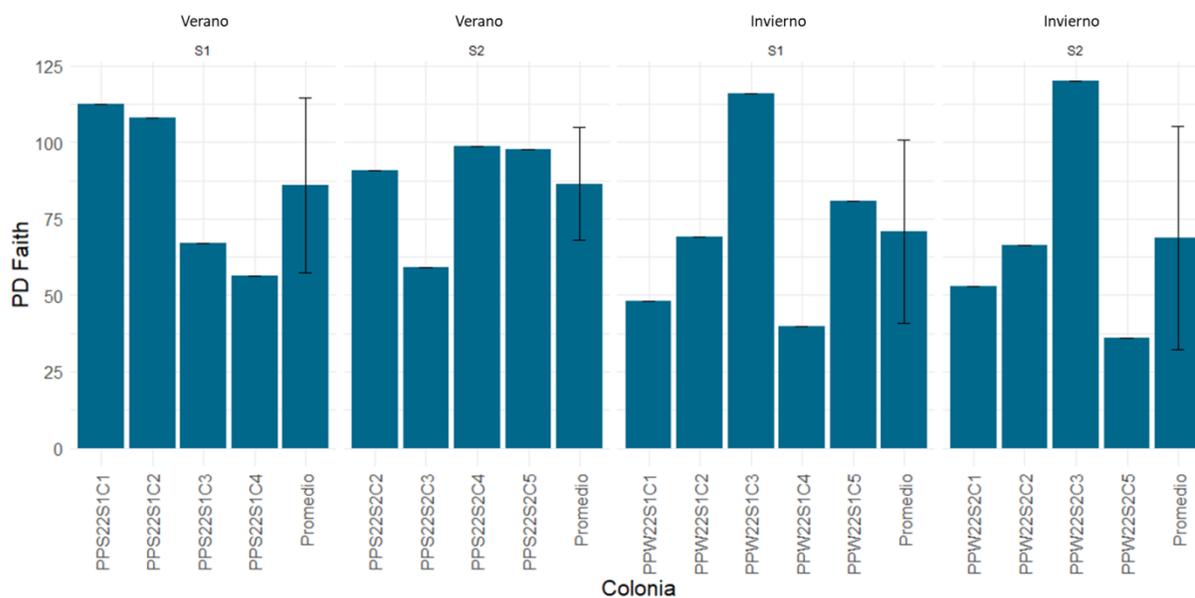


Figura 19. Diversidad Filogenética de Faith por sitio y temporada. Promedio de cada sitio con desviación estándar (SD).

3.6.2 Diversidad beta

En el gráfico (Figura 20), se observa la evaluación de la diversidad beta utilizando la métrica de Unifrac ponderada (Weighted UniFrac). El eje uno y el eje dos explican el 30.81% y el 17.3% de la variabilidad total, respectivamente. Se observa un agrupamiento de seis colonias correspondientes a verano y cuatro de invierno en el lado izquierdo de la figura. En estas colonias se puede observar que la composición de la comunidad microbiana es similar.

Se puede observar cerca de este grupo a las colonias C3 y C4 correspondientes a verano del sitio 2, la distancia entre los puntos refleja la diferencia en la composición de la comunidad, ya que solo en estas colonias se puede observar la presencia de Chlorobiaceae en verano. De igual manera, en la C3 se detectó la dominancia del clado SAR116, además de la presencia de Vibrionaceae, la cual solo estuvo presente en esta temporada. En la parte inferior de la gráfica, se observa un agrupamiento de las colonias 1 y 5 de ambos sitios correspondientes a invierno. En estas colonias, se observan los valores más altos de Flavobacteriaceae y la ausencia de Chlorobiaceae de ambas temporadas.

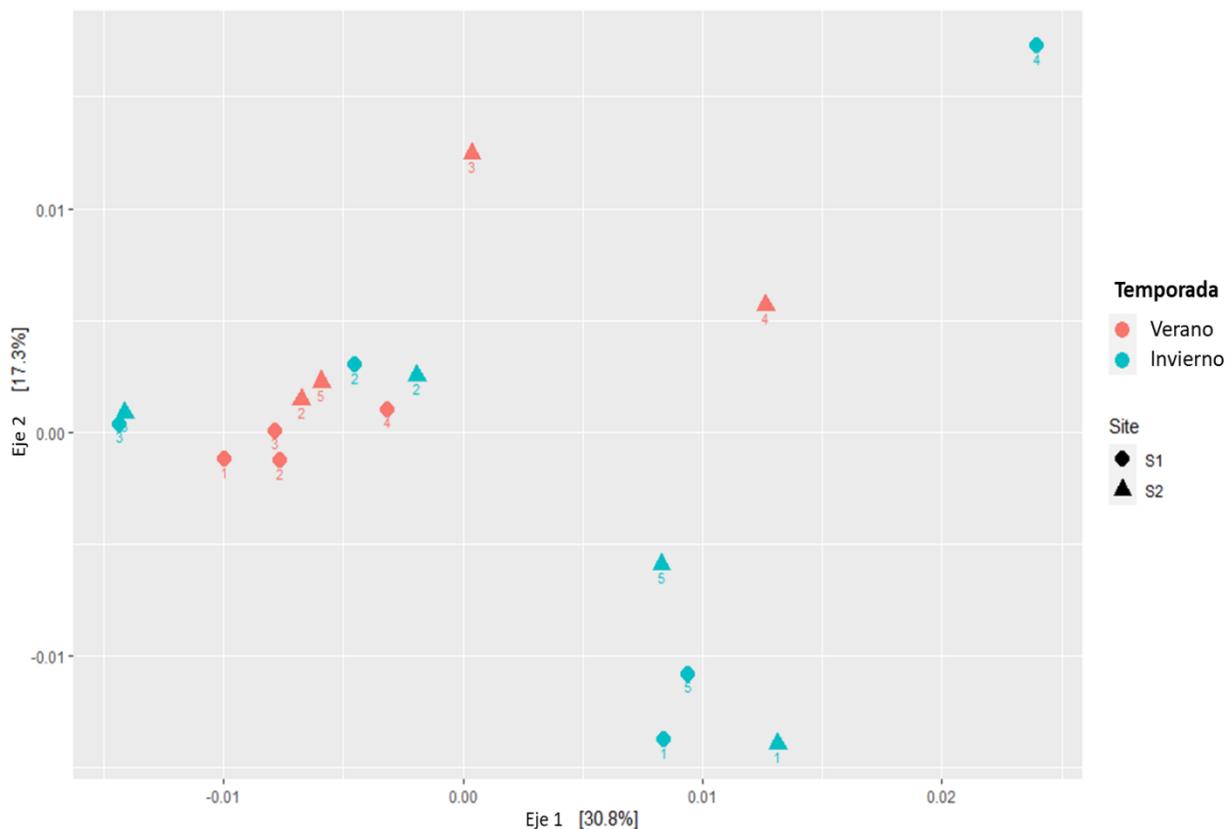


Figura 20. Análisis de PCoA utilizando distancia UniFrac. Se indican las estaciones Verano (Rosa), Invierno (azul) y los sitios 1 (círculo) y 2 (triángulo).

Por otro lado, se observa a la colonia C4 del S1, situada en la esquina superior de la figura, la distancia de esta colonia con los demás puntos refleja la diferencia en la composición de la comunidad, la cual se destacó por la ausencia de arqueas y la abundancia relativa de Chlorobiaceae en ambas temporadas. Esta diferencia fue evidente en todo el análisis taxonómico (Figura 15, 16 y 17).

A pesar de estas diferencias en la composición de arqueas y bacterias entre sitios y temporadas, al realizar el análisis de Permanova no se observaron diferencias en la estructura de la comunidad microbiana significativas entre sitios ($R^2 = 0.02$, $p = 0.94$) o temporadas ($p = 0.05$ y $R^2 = 0.11$) (Tabla 7). Es importante resaltar que la mayor parte de la variación observada en la estructura de la comunidad parece ser el resultado de otros factores no incluidos en el modelo.

Tabla 7. Resultado PERMANOVA anidado de la diversidad beta entre sitios y temporadas

	Df	SumOfSqs	R2	F	P
Season	1	0.0005	1.81	0.11	0.05
Site	1	0.0001	0.46	0.02	0.94
Residual	14	0.004	0.86		

Capítulo 4. Discusión

4.1 Composición microbiana

El microbioma de *P. panamensis* estuvo conformado por 25 filos, 107 familias y 110 géneros. En un trabajo que describió la composición microbiana asociada a *P. panamensis* en ventilas hidrotermales de Baja California Sur se reportaron una menor cantidad de filos (17), pero un mayor número de familias (129) (Reigel et al., 2021). Estas diferencias evidencian como las condiciones ambientales específicas de cada hábitat pueden propiciar variaciones en la composición microbiana asociadas a corales, además de influir en la estructura de las comunidades microbianas (Pei et al., 2023).

El análisis de la comunidad microbiana reveló la presencia de diversos filos, entre los cuales se destacan Proteobacteria, Bacteroidota, Cianobacteria, Chloroflexi, Firmicutes y Planctomycetes. La abundancia predominante de Proteobacteria y Bacteroidota en este estudio coincide con hallazgos anteriores en el microbioma de *P. panamensis* en el Golfo de Baja California (Reigel et al., 2021). Además, en un estudio donde se integraron y compararon filogenéticamente 21,100 secuencias de genes de ARNr de bacterias y arqueas asociadas con corales para crear la Base de Datos de Microbioma de Coral, se reconoce a Proteobacteria, Cianobacteria, Firmicutes y Chloroflexi como los principales filos microbianos debido a su abundancia en comunidades coralinas (Huggett & Apprill, 2019).

Dentro de las Proteobacterias se identificó la presencia de las bacterias Rhodobacteraceae, Kiloniellaceae, Prosthecochloris, y dentro de las arqueas *Candidatus Amoebophilus* y *Candidatus Nitrosopumilus* como algunas de las más abundantes en este estudio. Estas bacterias también son mencionadas dentro del microbioma en *P. panamensis* en ventilas hidrotermales en el estudio realizado por Reigel et al. (2021). Esto nos da una idea de la similitud en los integrantes de la comunidad microbiana asociadas a corales del género *Porites* en distintas ubicaciones geográficas.

La presencia de Rhodobacteriaceae se ha identificado como un componente importante de las comunidades bacterianas núcleo y residentes en los diferentes estadios de desarrollo de los corales debido a sus potenciales funciones metabólicas (Blanckaert et al., 2021). Esta familia junto con Flavobacteriaceae se han reportado en otros géneros de corales como *Acropora* y *Pocillopora* en Australia y en *Porites* en el Pacífico (Bernasconi et al., 2019; Clarke et al., 2019; Ostria-Hernández et al., 2022).

Dentro de la familia Rhodobacteraceae se identificó el género *Ruegeria*, existe un debate sobre el papel de esta bacteria en los corales, ya que aún no se sabe si es mutualista, patógeno o simplemente comensal (Casey et al., 2015). Debido a que se ha reportado que podría estar asociada con la aparición y promoción de enfermedades coralinas (Sunagawa et al., 2009). Sin embargo, en corales como *Galaxea fascicularis*, *Acropora millepora* y *Porites lutea* en el Mar de China Meridional (Li et al., 2013) y en *Galaxea fascicularis* bajo condiciones controladas, se ha observado que *Ruegeria* puede tener un papel potencial en el mantenimiento de la salud de los corales y la prevención de enfermedades (Miura et al., 2019).

Por otro lado, las bacterias de la familia Kiloniellaceae se han relacionado con procesos de desnitrificación (Imhoff & Wiese, 2014), involucrados en la reducción de nitratos a nitrógeno gaseoso, además se ha mencionado que podría estar estrechamente relacionado con algas simbioses del tejido (*Symbiodiniaceae*) y del esqueleto (*Ostreobium*) (Massé et al., 2023; Pushpakumara et al., 2023)

La presencia del género *Prosthecochloris* se ha relacionado con factores abióticos específicos, como el oxígeno, la temperatura y la intensidad de la luz, parecidos a los observados en BLA (Nie et al., 2023). Además de en *P. panamensis*, *Prosthecochloris* se ha reportado como un género marino dominante en el esqueleto de algunos corales como *Galaxea fascicularis*, *Platygyra carnosa* y *Acropora pruinosa* en el Indo-Pacífico y se han relacionado con capacidades metabólicas especializadas, como oxidación de CO, hidratación de CO₂ y oxidación de azufre, lo que le permite adaptarse a los microambientes de los esqueletos coralinos. (Nie et al., 2023).

Dentro del orden Crenarchaeota, el cual se ha descrito como uno de los más abundantes en corales y con un papel potencial en el reciclaje de nitrógeno dentro del holobionte (Siboni et al., 2008). Se encuentran las arqueas *Candidatus Nitrosopumilus*, y bacterias *Candidatus Amoebophilus* las cuales se han reportado con capacidades de oxidación de amoníaco, lo cual se ha asociado con corales enriquecidos con nitrógeno que demuestran mayor resistencia al estrés térmico (Apprill et al., 2016., Beman et al., 2007; Siboni et al., 2008, 2012).

Dentro de las familias más abundantes encontramos a Rhizobiaceae, la cual también se ha reportado como una de las 20 familias más abundantes en corales como *Acropora humilis*, *Acropora millepora*, *Platygyra sinensis* y *Porites lutea* en Tailandia (Kusdianto et al., 2021). Estas bacterias se han reportado con funciones beneficiosas para los corales como la fijación de nitrógeno en corales *Pocillopora acuta*, *Seriotopora hystrix*, *Porites compressa* y *P. porites* de Australia, Curazao y Hawai (Morrow et al., 2022).

La familia Flavobacteriaceae fue la más abundante en este estudio, se ha reportado que estas bacterias pueden ayudar en la recuperación del blanqueamiento contribuyendo a la restauración de la salud y función del coral (Kusdianto et al., 2021). Sin embargo, también se ha observado que hay especies oportunistas de rápido crecimiento, (Teeling et al., 2012) relacionados con el blanqueamiento (Case et al., 2011) o algunas enfermedades como, por ejemplo, la mancha blanca (Gignoux-Wolfsohn & Vollmer, 2015). No obstante, se encuentran tanto en corales sanos como en corales estresados y se ha sugerido que podrían desempeñar un papel similar al de Endozoicomonas en los corales escleractinios (Dubé et al., 2021). Las Endozoicomonas son un género de bacterias simbiotes a menudo identificadas en corales bajo condiciones ambientales estresantes como cambios en la temperatura del agua, aumento de la acidez o cambios en la salinidad (Neave et al., 2016b; Pogoreutz et al., 2022; Reigel et al., 2021; Tandon et al., 2022).

Se ha reportado que las Endozoicomonas están involucradas en el transporte activo de nutrientes como el zinc, hierro, la protección contra patógenos ya que proporcionan vitaminas, antioxidantes y moléculas antimicrobianas a sus huéspedes coralinos y la formación de biopelículas, las cuales podría jugar un papel en la respuesta al estrés y adaptación a condiciones cambiantes (Maire et al., 2022; Pogoreutz & Ziegler, 2024). En *P. lobata* su abundancia relativa aumenta ante estrés por calor, sugiriendo una respuesta protectora a estrés térmico (McDevitt-Irwin et al., 2019; van Oppen & Blackall, 2019). En *P. panamensis* se han reportado como una de las bacterias con mayor abundancia en zonas cercanas a las ventilas que en colonias lejanas a las ventilas hidrotermales (Reigel et al., 2021). Por las condiciones ambientales a las que están sujetas las colonias de *P. panamensis* en BLA se esperaba registrar la presencia Endozoicomonas en este estudio. Sin embargo, este género bacteriano no estuvo presente dentro de la diversidad bacteriana. La ausencia de Endozoicomonas podría sugerir que otros miembros de la comunidad microbiana como algunas bacterias pertenecientes a la familia Flavobacteriaceae, Rhodobacteraceae, Rhizobiaceae, Kiloniellaceae, *Candidatus Amoebophilus* o las arqueas *Candidatus Nitrosopumilus* cumplen de manera similar con funciones como el transporte de nutrientes, la respuesta al estrés y la adaptación a condiciones cambiantes.

La mayor parte de las bacterias y arqueas mencionadas como parte del microbioma de *P. panamensis* hasta ahora, intervienen en alguna parte del ciclo del nitrógeno mediante la captación y fijación del nitrógeno o nitrificación y desnitrificación. La presencia de bacterias reconocidas por su capacidad de fijación de nitrógeno (diazotróficos) podría ser una respuesta a la disponibilidad de este elemento en el ambiente (Dos Santos et al., 2012).

Se ha registrado que el estrés por calor provoca cambios en las comunidades de diazótrofos, aumentando su capacidad de fijación de nitrógeno, sin embargo, no es asimilado por el tejido coralino ni por las algas simbiotas (Rädecker et al., 2021). El exceso de nitrógeno disponible puede desestabilizar el reciclaje de nutrientes en la simbiosis entre corales y algas, provocando una ruptura del funcionamiento del holobionte coralino (Rädecker et al., 2015, 2021; Wiedenmann et al., 2012), ya que la presencia de altos niveles de nitrato en los arrecifes costeros puede exacerbar la interrupción de la simbiosis coral-dinoflagelado y por lo tanto el blanqueamiento de los corales (Blanckaert et al., 2021).

Las comunidades coralinas de *P. panamensis* presentes en BLA, se enfrentan a diversos desafíos al estar expuestas a cambios estacionales como fluctuaciones en la temperatura superficial del mar, pH's bajos, constantes surgencias, corrientes continuas y un ambiente somero. Estos factores provocan alteraciones en la disponibilidad de nutrientes, estrés por calor y desequilibrios en las concentraciones de nitrógeno, fosfato y carbono, lo que podría alterar los ciclos biogeoquímicos dentro en los corales (Cunning et al., 2015; Pogoreutz et al., 2017; Rädecker et al., 2015b, 2021).

La diversidad de bacterias y arqueas identificadas en el microbioma de *P. panamensis*, incluidas Flavobacteriaceae, Rhodobacteraceae, Rhizobiaceae, Kiloniellaceae, Candidatus Amoebophilus y Candidatus Nitrosopumilus, sugiere una adaptación a estas condiciones cambiantes. La presencia de bacterias reconocidas por su capacidad de fijación de nitrógeno y otros procesos metabólicos esenciales podría influir en la respuesta del coral a los estresores ambientales y en la estabilidad del holobionte coralino. Estas interacciones entre el microbioma y las condiciones ambientales destacan la importancia de comprender la dinámica microbiana en corales bajo condiciones subóptimas, como las observadas en Bahía de los Ángeles.

4.2 Comparación de la comunidad microbiana entre sitios y temporadas.

El microbioma de *P. panamensis* en BLA se mantuvo estable a través de las temporadas y entre sitios. Con base en estos resultados se acepta la hipótesis planteada, ya que a pesar de las diferencias estacionales en BLA, no hubo diferencias significativas en la comunidad bacteriana de *P. panamensis* entre temporadas.

En múltiples estudios se han observado un aumento en los índices de riqueza y diversidad alfa en corales expuestos a condiciones ambientales subóptimas como altas temperaturas, aumento de la salinidad, sedimentación, contaminación y enfermedades (Frade et al., 2020; Glynn et al., 2017; McDevitt-Irwin

et al., 2017; Pollock et al., 2018; Rosenberg et al., 2007; Sunagawa et al., 2009; Zapata & Lozano-Cortés, 2015). Sin embargo, también se ha reportado que la diversidad alfa del microbioma de corales como *Porites lobata* y *Montipora aequituberculata* no responden a estrés por calor (McDevitt-Irwin et al., 2019). Esto podría estar relacionado con que el microbioma de corales que experimentan una exposición constante a fluctuaciones en las condiciones ambientales no siempre muestra cambios en su composición (Bourne et al., 2016b; Hennige et al., 2010; Reigel et al., 2021; Webster et al., 2016).

Se piensa que los corales tienen la capacidad de adquirir y mantener una mayor tolerancia al estrés a través del recuerdo de una exposición previa, llamada memoria ambiental, es probable que este proceso involucre tanto al huésped coralino como al microbioma (Hackerott et al., 2021). Se han reportado procesos de reproducción sexual y calcificación en los corales de BLA, a pesar de las variaciones ambientales (Cabral-Tena et al., 2013; Halfar et al., 2005), lo que sugiere una adaptación del microbioma de *P. panamensis* a estas condiciones. Estos hallazgos coinciden con estudios previos del microbioma de *P. panamensis* en ventilas hidrotermales, donde no se encontraron diferencias significativas entre sitios con condiciones extremas y óptimas en una misma temporada (Reigel et al., 2021), lo que indica que tanto *P. panamensis* como su holobionte tiene la capacidad de adquirir y mantener una mayor tolerancia a las condiciones subóptimas.

Se ha observado que los corales presentes en BLA llevan a cabo procesos de reproducción sexual y calcificación a pesar de las variaciones en las condiciones ambientales (Cabral-Tena et al., 2013; Halfar et al., 2005). Por lo que la estabilidad del microbioma de *P. panamensis* podría estar reflejando una adaptación a las condiciones ambientales presentes en BLA. Estos resultados concuerdan con el comportamiento observado anteriormente del microbioma de *P. panamensis* asociados con ventilas hidrotermales, donde el microbioma de corales en sitios con condiciones ambientales extremas y condiciones óptimas muestreados en una misma temporada, no presentan diferencias significativas, por lo que parece estar bien adaptado a altas temperaturas y pH bajo (Reigel et al., 2021).

En este estudio se observó que la diversidad filogenética (PD Faith) no tuvo diferencias entre sitios ni temporadas. Esto podría apoyar la idea que el microbioma de *P. panamensis* está adaptado a las condiciones ambientales presentes en BLA. Ya que la estabilidad en la diversidad filogenética se ha relacionado con la estabilidad en las fuentes de lípidos y proteínas del coral, y el funcionamiento del ciclo de nutrientes dentro del coral (Price et al., 2021). En contraste con lo observado al exponer corales *Pocillopora meandrina* a altas temperaturas bajo condiciones controladas, donde la diversidad filogenética del microbioma aumentó significativamente (Maher et al., 2019). De igual manera, al comparar corales

Acropora millepora sanos y enfermos con signos del Síndrome blanco se observó una reducción del 50% en la diversidad filogenética (Pollock et al., 2019).

Dentro de la comunidad bacteriana de *P. panamensis*, se encontraron las familias Alteromonadaceae y Vibrionaceae, las cuales engloban bacterias reportadas como oportunistas y potencialmente patógenas, aunque en abundancias relativas bajas, 0.002% - 0.202% respectivamente. La presencia de estos taxones es relevante ya que son de los más reportados en corales expuestos a condiciones ambientales estresantes (Bourne et al., 2016; Littman et al., 2011; McDevitt-Irwin et al., 2017; Thurber et al., 2009). Por otro lado, es importante recalcar que, aunque en bajas cantidades, Vibrionaceae sólo estuvo presente en verano lo que podría relacionarse con el aumento de temperatura, que ha demostrado influir en la presencia de esta familia de bacterias consideradas patógenas (Meenatchi et al., 2020; Rubio-Portillo et al., 2020; Kvennefors et al., 2012; Littman et al., 2011; McDevitt-Irwin et al., 2017).

Varias investigaciones sugieren que el estrés térmico puede reducir la capacidad de los corales para regular su microbioma y facilitar una invasión de microbios ambientales, entre ellos los patógenos, lo que en puede alterar el funcionamiento del holobionte (McDevitt-Irwin et al., 2017; Ziegler et al., 2017). Además, la variabilidad oceanográfica física y las condiciones ambientales locales específicas entre sitio juegan un papel importante en la composición y estructura de los microbiomas coralinos, lo que podría tener implicaciones para la salud de los corales afectando procesos clave como la fotosíntesis, la nutrición, la reproducción y la resistencia a enfermedades (Rosales et al., 2019). Sin embargo, nuestros resultados revelan una estabilidad en la composición y estructura del microbioma coralino lo que sugiere una adaptación del microbioma de *P. panamensis* a la variabilidad oceanográfica física y las condiciones ambientales locales.

En este estudio, las bacterias Flavobacteriales y Rhodobacterales, estuvieron presentes con una abundancia estable entre sitios y temporadas. En contraste con lo reportado cuando hay aumento de temperaturas en los ecosistemas coralinos, donde se ha observado una disminución de Rhodobacterales, permitiendo el aumento de *Flavobacteriales* y Rhizobiales (Gajigan et al., 2017). Las Rhodobacteraceae se han relacionado a propiedades patógenas y oportunistas en corales del género *Porites sp.* (Glasl et al., 2016). Sin embargo, algunos géneros de Rhodobacteraceae se han relacionado con la capacidad para obtener energía a través de la oxidación de azufre, la capacidad para eliminar pequeñas cantidades de material orgánico como fuente de carbono (Neulinger et al., 2008), la posible utilización de urea para facilitar la calcificación del esqueleto cuando el ambiente se acidifica (Luo et al., 2021) y su tolerancia a condiciones anaeróbicas encontradas en el mucus coralino (Kellogg, 2004) y en los pólipos (Neulinger

et al., 2008). Estas observaciones resaltan la complejidad de las interacciones microbianas en los ecosistemas coralinos y señalan la importancia de continuar investigando los roles específicos de las bacterias asociadas a corales en diferentes condiciones ambientales.

La estabilidad del microbioma coralino de *P. panamensis* entre temporadas y sitios podría estar relacionado con la capacidad de los corales en ambientes subóptimos como BLA para soportar las fluctuaciones de temperatura sin blanqueamiento, daño aparente o cambios en el microbioma. Lo que sugiere una posible tolerancia térmica, y una posible ventaja en escenarios futuros de cambio climático con grandes variaciones estacionales y fluctuaciones asimétricas de temperatura diarias (Keshavmurthy et al., 2021).

En un estudio realizado en corales *Acropora hyacinthus* y *Acropora spathulata* en dos arrecifes de la Gran Barrera de Coral, se examinaron las variaciones temporales en su microbioma para determinar si reflejaban ciclos estacionales. Se observaron variaciones significativas en la composición de bacterias entre puntos de tiempo para ambas especies de coral, pero no hubo evidencia que sugiera que estas variaciones fueran cíclicas o representaran variación estacional.

Esta información generada, junto con más estudios sobre los microbiomas coralinos, se podrían comenzar a generar estrategias para su uso como bioindicadores, y así tener una mejor comprensión de la salud de los arrecifes. Esto permitiría detectar de manera oportuna amenazas específicas como la presencia de patógenos, floraciones de algas nocivas o cambios en la comunidad microbiana asociados con estas amenazas (Roitman et al., 2018).

Sin embargo, es importante señalar la importancia de aumentar la investigación e identificación de los componentes del microbioma de los corales, ya que se ha mencionado que a pesar de los conocimientos sobre algunos ordenes o familias, deben evitarse las generalizaciones sobre qué los organismos son beneficiosos o perjudiciales para los corales, ya que las interacciones entre especies dependen de genes altamente específicos que permiten que las bacterias se comporten de determinadas maneras (Mohamed et al., 2023).

Capítulo 5. Conclusiones

El microbioma de *Porites panamensis* mostró una alta estabilidad en su estructura y composición, a pesar de las diferencias en las condiciones ambientales entre los sitios, no se observó un aumento en la presencia de taxones patógenos. Esto nos permite concluir que *Porites panamensis* está bien adaptado a las condiciones ambientales actuales en Bahía de los Ángeles, incluyendo fluctuaciones en la temperatura superficial del mar, bajos niveles de pH, constantes surgencias corrientes continuas y un entorno somero. Este microbioma se caracteriza por la dominancia de taxones que proporcionan y reciclan nutrientes, además de tener funciones diazotróficas, lo que podría ser una respuesta a la disponibilidad de nitrógeno en el ambiente. La composición de la comunidad microbiana asociada a *P. panamensis* proporciona información sobre los procesos que podrían facilitar la amplia distribución de la especie a lo largo del Pacífico Oriental Tropical (POT), incluso en ambientes con condiciones subóptimas para los corales. Es importante continuar con la identificación del microbioma coralino a niveles taxonómicos más específicos para comprender su función y las interacciones entre los diferentes microhábitats, así como su contribución a la salud de los holobiontes.

Literatura citada

- Agostini, S., Suzuki, Y., Higuchi, T., Casareto, B. E., Yoshinaga, K., Nakano, Y., & Fujimura, H. (2012). Biological and chemical characteristics of the coral gastric cavity. *Coral Reefs*, 31(1), 147–156. <https://doi.org/10.1007/s00338-011-0831-6>
- Ainsworth, T. D., Krause, L., Bridge, T., Torda, G., Raina, J. B., Zakrzewski, M., Gates, R. D., Padilla-Gamiño, J. L., Spalding, H. L., Smith, C., Woolsey, E. S., Bourne, D. G., Bongaerts, P., Hoegh-Guldberg, O., & Leggat, W. (2015). The coral core microbiome identifies rare bacterial taxa as ubiquitous endosymbionts. *ISME Journal*, 9(10), 2261–2274. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.39>
- Ainsworth, T. D., Thurber, R. V., & Gates, R. D. (2010). The future of coral reefs: a microbial perspective. En *Trends in Ecology and Evolution* (25,(4), 233–240). <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.11.001>
- Álvarez-Borrego, S. (2008). Oceanografía de la región de las grandes islas. En G. D. Danemann & E. Ezcurra (Eds.), *Bahía de los Ángeles: recursos naturales y comunidad* (pp. 45–65).
- Amador, A., Saúl, B., Serrano Guzmán, J., Luisa, M., & Espinoza, A. (1991). Numerical model of the circulation induced by the wind at Bahía de Los Angeles, B.C., Mexico. *Ciencias Marinas*, 17(3), 39–57. <https://doi.org/10.7773/cm.v17i3.822>
- Andrews, S. (08 de enero de 2019). *FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data*. Babraham Bioinformatics. <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- Apprill, A., Marlow, H. Q., Martindale, M. Q., & Rappé, M. S. (2009). The onset of microbial associations in the coral *Pocillopora meandrina*. *ISME Journal*, 3(6), 685–699. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.3>
- Beman, J. M., Roberts, K. J., Wegley, L., Rohwer, F., & Francis, C. A. (2007). Distribution and diversity of archaeal ammonia monooxygenase genes associated with corals. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(17), 5642–5647. <https://doi.org/10.1128/AEM.00461-07>
- Bernasconi, R., Stat, M., Koenders, A., Papparini, A., Bunce, M., & Huggett, M. J. (2019). Establishment of coral-bacteria symbioses reveal changes in the core bacterial community with host ontogeny. *Frontiers in Microbiology*, 10, 459531. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01529>
- Blanckaert, A. C. A., de Barros Marangoni, L. F., Rottier, C., Grover, R., & Ferrier-Pagès, C. (2021). Low levels of ultra-violet radiation mitigate the deleterious effects of nitrate and thermal stress on coral photosynthesis. *Marine Pollution Bulletin*, 167, 112257. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112257>
- Bourne, D. G., Morrow, K. M., & Webster, N. S. (2016). Insights into the coral microbiome: underpinning the health and resilience of reef ecosystems. *Annual review of microbiology*, 70, 317-340. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-102215-095440>
- Bourne, D. G., & Munn, C. B. (2005). Diversity of bacteria associated with the coral *Pocillopora damicornis* from the Great Barrier Reef. *Environmental Microbiology*, 7(8), 1162–1174. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00793.x>
- Bourne, D. G., & Webster, N. S. (2012). Coral reef bacterial communities. *The Prokaryotes: Prokaryotic Communities and Ecophysiology*, 163–187. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30123-0_48

- Bourne, D., Iida, Y., Uthicke, S., & Smith-Keune, C. (2008). Changes in coral-associated microbial communities during a bleaching event. *ISME Journal*, 2(4), 350–363. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.112>
- Brandl, S. J., Rasher, D. B., Côté, I. M., Casey, J. M., Darling, E. S., Lefcheck, J. S., & Duffy, J. E. (2019). Coral reef ecosystem functioning: eight core processes and the role of biodiversity. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 17(8), 445–454. <https://doi.org/10.1002/fee.2088>
- Brown, B. E., & Bythell, J. C. (2005). Perspectives on mucus secretion in reef corals. *Marine Ecology Progress Series*, 296, 291–309. <https://doi.org/10.3354/meps296291>
- Brown, B. E., Dunne, R. P., Goodson, M. S., & Douglas, A. E. (2000). Bleaching patterns in reef corals. *Nature*, 404(6774), 142–143. <https://doi.org/10.1038/35004657>
- Cabral-Tena, R. A., Reyes-Bonilla, H., Lluch-Cota, S., Paz-García, D. A., Calderón-Aguilera, L. E., Norzagaray-López, O., & Balart, E. F. (2013). Different calcification rates in males and females of the coral *Porites panamensis* in the Gulf of California. *Marine Ecology Progress Series*, 476, 1–8. <https://doi.org/10.3354/meps10269>
- Cárdenas, A., Rodríguez-R, L. M., Pizarro, V., Cadavid, L. F., & Arévalo-Ferro, C. (2011). Shifts in bacterial communities of two caribbean reef-building coral species affected by white plague disease. *The ISME Journal*, 6(3), 502–512. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.123>
- Case, R. J., Longford, S. R., Campbell, A. H., Low, A., Tujula, N., Steinberg, P. D., & Kjelleberg, S. (2011). Temperature induced bacterial virulence and bleaching disease in a chemically defended marine macroalga. *Environmental Microbiology*, 13(2), 529–537. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02356.x>
- Casey, J. M., Connolly, S. R., & Ainsworth, T. D. (2015). Coral transplantation triggers shift in microbiome and promotion of coral disease associated potential pathogens. *Scientific Reports*, 5(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep11903>
- Chen, T., Li, S., Shi, Q., & Chen, T. (2016). Cold tolerance of subtropical *Porites lutea* from the northern South China Sea. *Acta Oceanologica Sinica*, 35(12), 58–64. <https://doi.org/10.1007/s13131-016-0940-8>
- Clarke, H., D’Olivo, J. P., Conde, M., Evans, R. D., & McCulloch, M. T. (2019). Coral Records of Variable Stress Impacts and Possible Acclimatization to Recent Marine Heat Wave Events on the Northwest Shelf of Australia. *Paleoceanography and Paleoclimatology*, 34(11), 1672–1688. <https://doi.org/10.1029/2018PA003509>
- Coissac, E., Riaz, T., & Puillandre, N. (2012). Bioinformatic challenges for DNA metabarcoding of plants and animals. *Molecular Ecology*, 21(8), 1834–1847. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05550.x>
- Cunning, R., Gillette, P., Capo, T., Galvez, K., & Baker, A. C. (2015). Growth tradeoffs associated with thermotolerant symbionts in the coral *Pocillopora damicornis* are lost in warmer oceans. *Coral Reefs*, 34(1), 155–160. <https://doi.org/10.1007/s00338-014-1216-4>
- Daniels, C. A., Zeifman, A., Heym, K., Ritchie, K. B., Watson, C. A., Berzins, I., & Breitbart, M. (2011). Spatial heterogeneity of bacterial communities in the mucus of *Montastraea annularis*. *Marine Ecology Progress Series*, 426, 29–40. <https://doi.org/10.3354/meps09024>

- Dos Santos, P. C., Fang, Z., Mason, S. W., Setubal, J. C., & Dixon, R. (2012). Distribution of nitrogen fixation and nitrogenase-like sequences amongst microbial genomes. *BMC Genomics*, *13*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-162>
- Dubé, C. E., Ziegler, M., Mercière, A., Boissin, E., Planes, S., Bourmaud, C. A. F., & Voolstra, C. R. (2021). Naturally occurring fire coral clones demonstrate a genetic and environmental basis of microbiome composition. *Nature Communications*, *12*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26543-x>
- Epstein, H. E., Torda, G., & van Oppen, M. J. H. (2019). Relative stability of the *Pocillopora acuta* microbiome throughout a thermal stress event. *Coral Reefs*, *38*(2), 373–386. <https://doi.org/10.1007/s00338-019-01783-y>
- Ewels, P., Magnusson, M., Lundin, S., & Käller, M. (2016). MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics*, *32*(19), 3047–3048. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw354>
- Faith, D. P., & Baker, A. M. (2006). Phylogenetic Diversity (PD) and Biodiversity Conservation: Some Bioinformatics Challenges. *Evolutionary Bioinformatics*, *2*, <https://doi.org/10.1177/117693430600200007>
- Fine, M., Gildor, H., & Genin, A. (2013). A coral reef refuge in the Red Sea. *Global Change Biology*, *19*(12), 3640–3647. <https://doi.org/10.1111/gcb.12356>
- Frade, P. R., Glasl, B., Matthews, S. A., Mellin, C., Serrão, E. A., Wolfe, K., Mumby, P. J., Webster, N. S., & Bourne, D. G. (2020). Spatial patterns of microbial communities across surface waters of the Great Barrier Reef. *Communications Biology*, *3*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01166-y>
- Frias-Lopez, J., Zerkle, A. L., Bonheyo, G. T., & Fouke, B. W. (2002). Partitioning of bacterial communities between seawater and healthy, black band diseased, and dead coral surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*, *68*(5), 2214–2228. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2214-2228.2002>
- Gajigan, A. P., & Conaco, C. (2017). A microRNA regulates the response of corals to thermal stress. *Molecular Ecology*, *26*(13), 3472–3483. <https://doi.org/10.1111/mec.14130>
- Gajigan, A. P., Diaz, L. A., & Conaco, C. (2017). Resilience of the prokaryotic microbial community of *Acropora digitifera* to elevated temperature. *MicrobiologyOpen*, *6*(4). <https://doi.org/10.1002/mbo3.478>
- Galand, P. E., Ruscheweyh, H. J., Salazar, G., Hochart, C., Henry, N., Hume, B. C. C., Oliveira, P. H., Perdereau, A., Labadie, K., Belser, C., Boissin, E., Romac, S., Poulain, J., Bourdin, G., Iwankow, G., Moulin, C., Armstrong, E. J., Paz-García, D. A., Ziegler, M., Planes, S. (2023). Diversity of the Pacific Ocean coral reef microbiome. *Nature Communications* *2023 14:1*, *14*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38500-x>
- Gignoux-Wolfsohn, S. A., & Vollmer, S. V. (2015). Identification of Candidate Coral Pathogens on White Band Disease-Infected Staghorn Coral. *PLOS ONE*, *10*(8), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142760>
- Glasl, B., Bourne, D. G., Frade, P. R., Thomas, T., Schaffelke, B., & Webster, N. S. (2019). Microbial indicators of environmental perturbations in coral reef ecosystems. *Microbiome*, *7*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0705-7>

- Glasl, B., Herndl, G. J., & Frade, P. R. (2016). The microbiome of coral surface mucus has a key role in mediating holobiont health and survival upon disturbance. *The ISME Journal*, *10*(9), 2280–2292. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.9>
- Glynn, P. W., Alvarado, J. J., Banks, S., Cortés, J., Feingold, J. S., Jiménez, C., Maragos, J. E., Martínez, P., Maté, J. L., Moanga, D. A., Navarrete, S., Reyes-Bonilla, H., Riegl, B., Rivera, F., Vargas-Ángel, B., Wieters, E. A., Zapata, F. A., Glynn, P. W., Alvarado, J. J., Zapata, F. A. (2017). Eastern Pacific Coral Reef Provinces, Coral Community Structure and Composition: An Overview. *Coral Reefs of the World*, *8*, 107–176. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_5
- Glynn, P. W., Manzello, D. P., & Enochs, I. C. (2017). *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific Persistence and Loss in a Dynamic Environment*. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4>
- González-Barrios, F. J., Cabral-Tena, R. A., & Alvarez-Filip, L. (2021). Recovery disparity between coral cover and the physical functionality of reefs with impaired coral assemblages. *Global Change Biology*, *27*(3), 640–651. <https://doi.org/10.1111/gcb.15431>
- Greene, A., Leggat, W., Donahue, M. J., Raymundo, L. J., Caldwell, J. M., Moriarty, T., Heron, S. F., & Ainsworth, T. D. (2020). Complementary sampling methods for coral histology, metabolomics and microbiome. *Methods in Ecology and Evolution*, *11*(9), 1012–1020. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13431>
- Hackerott, S., Martell, H. A., & Eirin-Lopez, J. M. (2021). Coral environmental memory: causes, mechanisms, and consequences for future reefs. *Trends in Ecology & Evolution*, *36*(11), 1011–1023. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2021.06.014>
- Halfar, J., Godinez-Orta, L., Riegl, B., Valdez-Holguin, J. E., & Borges, J. M. (2005). Living on the edge: High-latitude Porites carbonate production under temperate eutrophic conditions. *Coral Reefs*, *24*(4), 582–592. <https://doi.org/10.1007/s00338-005-0029-x>
- Hansson, L., Agis, M., Maier, C., & Weinbauer, M. G. (2009). Community composition of bacteria associated with cold-water coral *Madrepora oculata*: Within and between colony variability. *Marine Ecology Progress Series*, *397*, 89–102. <https://doi.org/10.3354/meps08429>
- Harborne, A. R., Rogers, A., Bozec, Y. M., & Mumby, P. J. (2017). Multiple Stressors and the Functioning of Coral Reefs. En *Annual Review of Marine Science* *9*, 445–468. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060551>
- Hennige, S. J., Smith, D. J., Walsh, S. J., McGinley, M. P., Warner, M. E., & Suggett, D. J. (2010). Acclimation and adaptation of scleractinian coral communities along environmental gradients within an Indonesian reef system. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *391*(1–2), 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2010.06.019>
- Hernandez-Agreda, A., Leggat, W., Bongaerts, P., & Ainsworth, T. D. (2016). The microbial signature provides insight into the mechanistic basis of coral success across reef habitats. *mBio*, *7*(4). <https://doi.org/10.1128/mbio.00560-16>
- Hernandez-Agreda, A., Leggat, W., Bongaerts, P., Herrera, C., & Ainsworth, T. D. (2018). Rethinking the coral microbiome: Simplicity exists within a diverse microbial biosphere. *mBio*, *9*(5). <https://doi.org/10.1128/mbio.00812-18>

- Hernández-Zulueta, J., Díaz-Pérez, L., Araya, R., Vargas-Ponce, O., Rodríguez-Troncoso, A. P., Ríos-Jara, E., Ortiz, M., & Rodríguez-Zaragoza, F. A. (2017). Bacterial assemblages associated with coral species of the Mexican Central Pacific. *Revista de biología marina y oceanografía*, 52(2), 201–218. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572017000200002>
- Hernández-Zulueta, J., Díaz-Pérez, L., Galván-Villa, C. M., Ayón-Parente, M., Gómez-Petersen, P., Godínez-Domínguez, E., & Rodríguez-Zaragoza, F. A. (2021). Structure and spatial variation of the hermatypic coral assemblages of the southern coast of Jalisco, in the Mexican Central Pacific. *Journal of Sea Research*, 170. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2021.102010>
- Hidalgo González, M. R., Alberto Zirino, & Borrego Álvarez Saúl. (1997). Mezcla en la región de las grandes islas del Golfo de California: efecto en la pc_0 , superficial. *Ciencias Marinas*, 23, 317–327. <https://doi.org/10.7773/cm.v23i3.813>
- Huggett, M. J., & Apprill, A. (2019). Coral microbiome database: Integration of sequences reveals high diversity and relatedness of coral-associated microbes. *Environmental Microbiology Reports*, 11(3), 372–385. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12686>
- Hughes, D. J., Raina, J. B., Nielsen, D. A., Suggett, D. J., & Kühl, M. (2022). Disentangling compartment functions in sessile marine invertebrates. *Trends in Ecology and Evolution*, 37(9), 740–748. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2022.04.008>
- Hughes, T. P., Barnes, M. L., Bellwood, D. R., Cinner, J. E., Cumming, G. S., Jackson, J. B. C., Kleypas, J., Van De Leemput, I. A., Lough, J. M., Morrison, T. H., Palumbi, S. R., Van Nes, E. H., & Scheffer, M. (2017). Coral reefs in the Anthropocene. En *Nature* 546(7656), 82–90. <https://doi.org/10.1038/nature22901>
- Hughes, T. P., Graham, N. A. J., Jackson, J. B. C., Mumby, P. J., & Steneck, R. S. (2010). Rising to the challenge of sustaining coral reef resilience. En *Trends in Ecology and Evolution* 25(11), 633–642. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.07.011>
- Imhoff, J. F., & Wiese, J. (2014). The order Kiloniellales. *The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria*, 301–306. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30197-1_301
- Kellogg, C. A. (2004). Tropical Archaea: diversity associated with the surface microlayer of corals. *Marine Ecology Progress Series*, 273, 81–88. <https://doi.org/10.3354/MEPS273081>
- Keshavmurthy, S., Beals, M., Hsieh, H. J., Choi, K. S., & Chen, C. A. (2021). Physiological plasticity of corals to temperature stress in marginal coral communities. *Science of The Total Environment*, 758. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.143628>
- Kim, B. R., Shin, J., Guevarra, R. B., Lee, J. H., Kim, D. W., Seol, K. H., Lee, J. H., Kim, H. B., & Isaacson, R. E. (2017). Deciphering Diversity Indices for a Better Understanding of Microbial Communities. *Journal of microbiology and biotechnology*, 27(12), 2089–2093. <https://doi.org/10.4014/JMB.1709.09027>
- Knight, R., Vrbanac, A., Taylor, B. C., Aksenov, A., Callewaert, C., Debelius, J., Gonzalez, A., Kosciolk, T., McCall, L. I., McDonald, D., Melnik, A. V., Morton, J. T., Navas, J., Quinn, R. A., Sanders, J. G., Swafford, A. D., Thompson, L. R., Tripathi, A., Xu, Z. Z., Dorrestein, P. C. (2018). Best practices for analysing microbiomes. *Nature Reviews Microbiology*. 16(7), 410–422. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0029-9>
- Kolzenburg, R. (2022). The direct influence of climate change on marginal populations: a review. *Aquatic Sciences*, 84(2), 1–20. <https://doi.org/10.1007/s00027-022-00856-5>

- Kusdianto, H., Kullapanich, C., Palasuk, M., Jandang, S., Pattaragulwanit, K., Ouazzani, J., Chavanich, S., Viyakarn, V., & Somboonna, N. (2021). Microbiomes of Healthy and Bleached Corals During a 2016 Thermal Bleaching Event in the Upper Gulf of Thailand. *Frontiers in Marine Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.643962>
- Kvennefors, E. C. E., Sampayo, E., Kerr, C., Vieira, G., Roff, G., & Barnes, A. C. (2012). Regulation of Bacterial Communities Through Antimicrobial Activity by the Coral Holobiont. *Microbial Ecology*, 63(3), 605–618. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9946-0>
- Lavín, M. F., Beier, E., & Badan, A. (1997). Estructura hidrográfica y circulación del Golfo de California: Escalas estacional e interanual. En *Contribuciones a la Oceanografía Física en México, Monografía 3*, 141–171.
- Li, J., Chen, Q., Zhang, S., Huang, H., Yang, J., Tian, X. P., & Long, L. J. (2013). Highly Heterogeneous Bacterial Communities Associated with the South China Sea Reef Corals *Porites lutea*, *Galaxea fascicularis* and *Acropora millepora*. *PLOS ONE*, 8(8), e71301. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071301>
- Li, J., Yang, Q., Dong, J., Sweet, M., Zhang, Y., Liu, C., Zhang, Y., Tang, X., Zhang, W., & Zhang, S. (2022). Microbiome Engineering: A Promising Approach to Improve Coral Health. *Engineering*. <https://doi.org/10.1016/J.ENG.2022.07.010>
- Littman, R., Willis, B. L., & Bourne, D. G. (2011). Metagenomic analysis of the coral holobiont during a natural bleaching event on the Great Barrier Reef. *Environmental Microbiology Reports*, 3(6), 651–660. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2010.00234.x>
- López, M., Candela, J., & Argote, M. L. (2006). Why does the Ballenas Channel have the coldest SST in the Gulf of California? *Geophysical Research Letters*, 33(11). <https://doi.org/10.1029/2006GL025908>
- López Tejada, N. L. (2020). *Influencia de la circulación en la variabilidad de la biomasa de fitoplancton en Bahía de los Ángeles, Baja California: resultados de un modelo numérico oceánico de interacción físico-biológica*. [Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio institucional <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/3357>
- Lozupone, C., & Knight, R. (2005). UniFrac: A new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12), 8228–8235. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8228-8235.2005>
- Luna Barreda, L. J., Herzka Llona, S. Z., Juárez Camacho, P., & Cabral Tena, R. A. (2021). *Variación espacial y temporal del reclutamiento coralino y de la supervivencia post-reclutamiento en bahía de Los Ángeles, Baja California, México*. [Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio institucional <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/3631>
- Luo, D., Wang, X., Feng, X., Tian, M., Wang, S., Tang, S. L., Ang, P., Yan, A., & Luo, H. (2021). Population differentiation of Rhodobacteraceae along with coral compartments. *The ISME Journal* 2021 15:11, 15(11), 3286–3302. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01009-6>
- Maher, R. L., Rice, M. M., McMinds, R., Burkepile, D. E., & Vega Thurber, R. (2019). Multiple stressors interact primarily through antagonism to drive changes in the coral microbiome. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43274-8>

- Maher, R. L., Schmeltzer, E. R., Meiling, S., McMinds, R., Ezzat, L., Shantz, A. A., Adam, T. C., Schmitt, R. J., Holbrook, S. J., Burkepille, D. E., & Vega Thurber, R. (2020). Coral Microbiomes Demonstrate Flexibility and Resilience Through a Reduction in Community Diversity Following a Thermal Stress Event. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8, 555698. <https://doi.org/10.3389/fevo.2020.555698>
- Maire, J., Blackall, L. L., & van Oppen, M. J. H. (2021). Intracellular Bacterial Symbionts in Corals: Challenges and Future Directions. *Microorganisms*, 9(11), 2209. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112209>
- Maire, J., Tandon, K., Collingro, A., Meene, A. van de, Damjanovic, K., Gøtze, C. R., Stephenson, S., Philip, G. K., Horn, M., Cantin, N. E., Blackall, L. L., & Oppen, M. J. H. van. (2022). Endozoicomonas-chlamydiae interactions in cell-associated microbial aggregates of the coral *Pocillopora acuta*. *bioRxiv*, 11. <https://doi.org/10.1101/2022.11.28.517745>
- Marcelino, V. R., Van Oppen, M. J. H., & Verbruggen, H. (2018). Highly structured prokaryote communities exist within the skeleton of coral colonies. *ISME Journal*, 12(1), 300–303. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.164>
- Marcelino, V. R., & Verbruggen, H. (2016). Multi-marker metabarcoding of coral skeletons reveals a rich microbiome and diverse evolutionary origins of endolithic algae. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep31508>
- Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal*, 17(1), 10–12. <https://doi.org/10.14806/EJ.17.1.200>
- Martínez-Díaz-de-León, A., Pacheco-Ruíz, I., Delgadillo-Hinojosa, F., Zertuche-González, J. A., Chee-Barragán, A., Blanco-Betancourt, R., Guzmán-Calderón, J. M., & Gálvez-Telles, A. (2006). Spatial and temporal variability of the sea surface temperature in the Ballenas-Salsipuedes Channel (central Gulf of California). *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 111(2). <https://doi.org/10.1029/2005JC002940>
- Massé, A., Detang, J., Duval, C., Duperron, S., Woo, A. C., & Domart-Coulon, I. (2023). Bacterial Microbiota of *Ostreobium*, the Coral-Isolated Chlorophyte Ectosymbiont, at Contrasted Salinities. *Microorganisms*, 11(5), 1318. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051318>
- McDevitt-Irwin, J. M., Baum, J. K., Garren, M., & Vega Thurber, R. L. (2017). Responses of coral-associated bacterial communities to local and global stressors. *Frontiers in Marine Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00262>
- McDevitt-Irwin, J. M., Garren, M., McMinds, R., Vega Thurber, R., & Baum, J. K. (2019). Variable interaction outcomes of local disturbance and El Niño-induced heat stress on coral microbiome alpha and beta diversity. *Coral Reefs*, 38(2), 331–345. <https://doi.org/10.1007/s00338-019-01779-8>
- McLaren, M. R., & Callahan, B. J. (2021). *Silva 138.1 prokaryotic SSU taxonomic training data formatted for DADA2 [Data set]*. <https://zenodo.org/records/4587955>
- Meenatchi, R., Thinesh, T., Brindangnanam, P., Hassan, S., Kiran, G. S., & Selvin, J. (2020). Revealing the impact of global mass bleaching on coral microbiome through 16S rRNA gene-based metagenomic analysis. *Microbiological Research*, 233, 126408. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126408>
- Meirelles, P. M., Soares, A. C., Oliveira, L., Leomil, L., Appolinario, L. R., Francini-Filho, R. B., De Moura, R. L., De Barros Almeida, R. T., Salomon, P. S., Amado-Filho, G. M., Kruger, R., Siegle, E., Tschoeke, D. A., Kudo, I., Mino, S., Sawabe, T., Thompson, C. C., & Thompson, F. L. (2018). Metagenomics of coral reefs under phase

shift and high hydrodynamics. *Frontiers in Microbiology*, 9(OCT).
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02203>

- Mhuantong, W., Nuryadi, H., Trianto, A., Sabdono, A., Tangphatsornruang, S., Eurwilaichitr, L., Kanokratana, P., & Champreda, V. (2019). Comparative analysis of bacterial communities associated with healthy and diseased corals in the Indonesian sea. *PeerJ*, 8137. <https://doi.org/10.7717/peerj.8137>
- Miura, N., Motone, K., Takagi, T., Aburaya, S., Watanabe, S., Aoki, W., & Ueda, M. (2019). *Ruegeria sp.* Strains Isolated from the Reef-Building Coral *Galaxea fascicularis* Inhibit Growth of the Temperature-Dependent Pathogen *Vibrio coralliilyticus*. *Marine Biotechnology*, 21(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s10126-018-9853-1>
- Mohamed, A. R., Ochsenkühn, M. A., Kazlak, A. M., Moustafa, A., & Amin, S. A. (2023). The coral microbiome: towards an understanding of the molecular mechanisms of coral–microbiota interactions. *FEMS Microbiology Reviews*, 47(2). <https://doi.org/10.1093/femsre/fuad005>
- Montilla, L. M., Ascanio, A., Verde, A., & Croquer, A. (2019). Systematic review and meta-analysis of 50 years of coral disease research visualized through the scope of network theory. *PeerJ*, 2019(6), 7041. <https://doi.org/10.7717/peerj.7041>
- Morrow, K. M., Moss, A. G., Chadwick, N. E., & Liles, M. R. (2012). Bacterial associates of two caribbean coral species reveal species-specific distribution and geographic variability. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(18), 6438–6449. <https://doi.org/10.1128/AEM.01162-12>
- Morrow, K. M., Pankey, M. S., & Lesser, M. P. (2022). Community structure of coral microbiomes is dependent on host morphology. *Microbiome*, 10(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01308-w>
- Neave, M. J., Rachmawati, R., Xun, L., Michell, C. T., Bourne, D. G., Apprill, A., & Voolstra, C. R. (2016). Differential specificity between closely related corals and abundant *Endozoicomonas* endosymbionts across global scales. *The ISME Journal*, 11(1), 186–200. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.95>
- Neulinger, S. C., Järnegren, J., Ludvigsen, M., Lochte, K., & Dullo, W. C. (2008). Phenotype-specific bacterial communities in the cold-water coral *Lophelia pertusa* (Scleractinia) and their implications for the coral's nutrition, health, and distribution. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(23), 7272–7285. <https://doi.org/10.1128/AEM.01777-08>
- Nie, Z., Tang, K., Wang, W., Wang, P., Guo, Y., Wang, Y., Kao, S. J., Yin, J., & Wang, X. (2023). Comparative genomic insights into habitat adaptation of coral-associated *Prosthecochloris*. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1138751>
- Norzagaray-López, C. O., Calderon-Aguilera, L. E., Hernández-Ayón, J. M., Reyes-Bonilla, H., Carricart-Ganivet, J. P., Cabral-Tena, R. A., & Balart, E. F. (2015). Low calcification rates and calcium carbonate production in *Porites panamensis* at its northernmost geographic distribution. *Marine Ecology*, 36(4), 1244–1255. <https://doi.org/10.1111/maec.12227>
- Oporto-Guerrero, T., Reyes-Bonilla, H., & Ladah, L. B. (2018). Presence of the reef-building coral, *Porites panamensis*, in a shallow hydrothermal field in the Gulf of California. *Marine Biodiversity*, 48(1), 703–708. <https://doi.org/10.1007/s12526-016-0546-6>
- Ostria-Hernández, M. L., Hernández-Zulueta, J., Vargas-Ponce, O., Díaz-Pérez, L., Araya, R., Rodríguez-Troncoso, A. P., Ríos-Jara, E., & Rodríguez-Zaragoza, F. A. (2022). Core microbiome of corals *Pocillopora damicornis*

and *Pocillopora verrucosa* in the northeastern tropical Pacific. *Marine Ecology*, 43(6), e12729. <https://doi.org/10.1111/MAEC.12729>

- Pantos, O., & Bythell, J. C. (2006). Bacterial community structure associated with white band disease in the elkhorn coral *Acropora palmata* determined using culture-independent 16S rRNA techniques. *Diseases of aquatic organisms*, 69(1), 79–88. <https://doi.org/10.3354/dao069079>
- Pantos, O., Cooney, R. P., Le Tissier, M. D. A., Barer, M. R., O'donnell, A. G., & Bythell, J. C. (2003). The bacterial ecology of a plague-like disease affecting the Caribbean coral *Montastrea annularis*. En *Environmental Microbiology* 5(5), 370-382. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00427.x>
- Paz-García, D. A., Lajeunesse, T. C., Chávez-Romo, H. E., Correa-Sandoval, F., & Reyes-Bonilla, H. (2008). Differences in the distribution of *Symbiodinium* spp. among morphotypes and genotypes of *Porites panamensis* from the Gulf of California, Mexico. 5, 7–11. <https://www.academia.edu/download/7183974/Paz-Garcia%20et%20al%202009c%20Differences%20in%20the%20distribution%20of%20Symbiodinium%20spp.pdf>
- Paz-García, D. A., Reyes-Bonilla, H., & Hernández-Cortés, M. P. (2008). Genetic variation in two morphotypes of *Porites panamensis* from the Gulf of California, Mexico. <http://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/2398>
- Pei, P. T., Liu, L., Jing, X. L., Liu, X. L., Sun, L. Y., Gao, C., Cui, X. H., Wang, J., Ma, Z. L., Song, S. Y., Sun, Z. H., & Wang, C. Y. (2023). Meta-analysis reveals variations in microbial communities from diverse stony coral taxa at different geographical distances. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1087750. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1087750>
- Peixoto, R. S., Sweet, M., Villela, H. D. M., Cardoso, P., Thomas, T., Voolstra, C. R., Høj, L., & Bourne, D. G. (2021). Coral Probiotics: Premise, Promise, Prospects. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-090120-115444>
- Pogoreutz, C., Oakley, C. A., Rådecker, N., Cárdenas, A., Perna, G., Xiang, N., Peng, L., Davy, S. K., Ngugi, D. K., & Voolstra, C. R. (2022). Coral holobiont cues prime *Endozoicomonas* for a symbiotic lifestyle. *The ISME Journal*, 16(8), 1883–1895. <https://doi.org/10.1038/s41396-022-01226-7>
- Pogoreutz, C., Rådecker, N., Cárdenas, A., Gärdes, A., Voolstra, C. R., & Wild, C. (2017). Sugar enrichment provides evidence for a role of nitrogen fixation in coral bleaching. *Global Change Biology*, 23(9), 3838–3848. <https://doi.org/10.1111/GCB.13695>
- Pogoreutz, C., & Ziegler, M. (2024). Frenemies on the reef? Resolving the coral–*Endozoicomonas* association. *Trends in Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/J.TIM.2023.11.006>
- Polapa, F. S., Werorilangi, S., Ali, S. M., & Jompa, J. (2021). Physiological responses of scleractinian corals in marginal habitat. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(9), 4011–4018. <https://doi.org/10.13057/BIODIV/D220949>
- Pollock, F. J., Lamb, J. B., Van De Water, J. A. J. M., Smith, H. A., Schaffelke, B., Willis, B. L., & Bourne, D. G. (2019). Reduced diversity and stability of coral-associated bacterial communities and suppressed immune function precedes disease onset in corals. *Royal Society Open Science*, 6(6). <https://doi.org/10.1098/RSOS.190355>

- Pollock, F. J., McMinds, R., Smith, S., Bourne, D. G., Willis, B. L., Medina, M., Thurber, R. V., & Zaneveld, J. R. (2018). Coral-associated bacteria demonstrate phylosymbiosis and cophylogeny. *Nature Communications* 2018 9:1, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07275-x>
- Price, J. T., McLachlan, R. H., Jury, C. P., Toonen, R. J., Wilkins, M. J., & Grottoli, A. G. (2021). Effect of species, provenance, and coral physiology on the composition of Hawaiian coral-associated microbial communities. *Coral Reefs*, 40(5), 1537–1548. <https://doi.org/10.1007/s00338-021-02164-0>
- Price, M. N., Dehal, P. S., & Arkin, A. P. (2010). FastTree 2 – Approximately Maximum-Likelihood Trees for Large Alignments. *PLOS ONE*, 5(3), e9490. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0009490>
- Pushpakumara, B. L. D. U., Tandon, K., Willis, A., & Verbruggen, H. (2023). The Bacterial Microbiome of the Coral Skeleton Algal Symbiont *Ostreobium* Shows Preferential Associations and Signatures of Phylosymbiosis. *Microbial Ecology*, 86(3), 2032–2046. <https://doi.org/10.1007/S00248-023-02209-7>
- Rädecker, N., Pogoreutz, C., Gegner, H. M., Cárdenas, A., Perna, G., Geißler, L., Roth, F., Bougoure, J., Guagliardo, P., Struck, U., Wild, C., Pernice, M., Raina, J. B., Meibom, A., & Voolstra, C. R. (2021a). Heat stress reduces the contribution of diazotrophs to coral holobiont nitrogen cycling. *The ISME Journal*, 16(4), 1110–1118. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01158-8>
- Rädecker, N., Pogoreutz, C., Gegner, H. M., Cárdenas, A., Perna, G., Geißler, L., Roth, F., Bougoure, J., Guagliardo, P., Struck, U., Wild, C., Pernice, M., Raina, J. B., Meibom, A., & Voolstra, C. R. (2021b). Heat stress reduces the contribution of diazotrophs to coral holobiont nitrogen cycling. *The ISME Journal*, 16(4), 1110–1118. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01158-8>
- Rädecker, N., Pogoreutz, C., Voolstra, C. R., Wiedenmann, J., & Wild, C. (2015). Nitrogen cycling in corals: the key to understanding holobiont functioning? *Trends in Microbiology*, 23(8), 490–497. <https://doi.org/10.1016/J.TIM.2015.03.008>
- Reigel, A. M., Paz-García, D. A., & Hellberg, M. E. (2021). Microbiome of a Reef-Building Coral Displays Signs of Acclimation to a Stressful Shallow Hydrothermal Vent Habitat. *Frontiers in Marine Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.652633>
- Reshef, L., Koren, O., Loya, Y., Zilber-Rosenberg, I., & Rosenberg, E. (2006). The Coral Probiotic Hypothesis. *Environmental Microbiology*, 8(12), 2068–2073. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01148.x>
- Reyes-Bonilla, H. (2003). Coral reefs of the Pacific coast of México. *Latin American Coral Reefs*, 331–349. <https://doi.org/10.1016/B978-044451388-5/50015-1>
- Ricci, F., Rossetto Marcelino, V., Blackall, L. L., Kühn, M., Medina, M., & Verbruggen, H. (2019). Beneath the surface: Community assembly and functions of the coral skeleton microbiome. *Microbiome*, 7, 1-10. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0762-y>
- Rico-Escenaro; S.D., Signoret Poillon, M., Aldeco, J., & Reyes-Bonilla, H. (2014). Balance metabólico en la simbiosis mutualista pólipto-alga en el coral hermatípico *Porites panamensis* en La Paz, Baja California Sur, México. *Oceanides*, 29(1), 1–10. <https://doi.org/10.37543/oceanides.v29i1.129>
- Ritchie, K. B. (2006). Regulation of microbial populations by coral surface mucus and mucus-associated bacteria. *Marine Ecology Progress Series*, 322, 1–14. <https://doi.org/10.3354/meps322001>

- Ritchie, K. B., & Smith, G. W. (2004). Microbial communities of coral surface mucopolysaccharide layers. En *Coral health and disease*. (pp. 259-264) Heidelberg: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-06414-6_13
- Roda-Garcia, J. J., Haro-Moreno, J. M., Huschet, L. A., Rodriguez-Valera, F., & López-Pérez, M. (2021). Phylogenomics of SAR116 Clade Reveals Two Subclades with Different Evolutionary Trajectories and an Important Role in the Ocean Sulfur Cycle. *mSystems*, 6(5). <https://doi.org/10.1128/msystems.00944-21>
- Rohwer, F., Seguritan, V., Azam, F., & Knowlton, N. (2002). Diversity and distribution of coral-associated bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 243, 1–10. <https://doi.org/10.3354/meps243001>
- Roitman, S., Joseph Pollock, F., & Medina, M. (2018). *Coral Microbiomes as Bioindicators of Reef Health*. 39–57. https://doi.org/10.1007/13836_2018_29
- Rosales, S. M., Sinigalliano, C., Gidley, M., Jones, P. R., & Gramer, L. J. (2019). Oceanographic habitat and the coral microbiomes of urban-impacted reefs. *PeerJ*, (9), e7552. <https://doi.org/10.7717/PEERJ.7552/SUPP-7>
- Rosenberg, E., & Ben-Haim, Y. (2002). Microbial diseases of corals and global warming. *Environmental Microbiology*, 4(6), 318–326. <https://doi.org/10.1046/J.1462-2920.2002.00302.X>
- Rosenberg, E., Koren, O., Reshef, L., Efrony, R., & Zilber-Rosenberg, I. (2007). The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. En *Nature Reviews Microbiology* 5(5), 355–362. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1635>
- Rubio-Portillo, E., Martin-Cuadrado, A. B., Caraballo-Rodríguez, A. M., Rohwer, F., Dorrestein, P. C., & Antón, J. (2020). Virulence as a side effect of interspecies interaction in vibrio coral pathogens. *mBio*, 11(4), 1–16. <https://doi.org/10.1128/mbio.00201-20>
- Sato, Y., Willis, B. L., & Bourne, D. G. (2010). Successional changes in bacterial communities during the development of black band disease on the reef coral. *Montipora hispida*. *ISME J.*, 4(2), 203–214. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.103>
- Schoepf, V., Baumann, J. H., Barshis, D. J., Browne, N. K., Comeau, S., Cornwall, C. E., Guzmán, H. M., Riegl, B., Rodolfo-Metalpa, R., & Sommer, B. (2023). Corals at the edge of environmental limits: A new conceptual framework to re-define marginal and extreme coral communities. *Science of The Total Environment*, 884. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163688>
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), & Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP). (2014). *Programa de Manejo Reserva de la Biosfera Zona Marina Bahía de Los Ángeles, Canales de Ballenas y de Salsipuedes*. https://www.bajacalifornia.gob.mx/Documentos/sest/desarrollo_sustentable/Programas_Proyectos/Manejo_areas_naturales_protegidas/BAHIA_LOS_ANGELES/Libro_Programa_Manejo_2014_RB.pdf
- Shiu, J. H., Keshavmurthy, S., Chiang, P. W., Chen, H. J., Lou, S. P., Tseng, C. H., Justin Hsieh, H., Allen Chen, C., & Tang, S. L. (2017). Dynamics of coral-associated bacterial communities acclimated to temperature stress based on recent thermal history. *Scientific Reports* 2017 7:1, 7(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14927-3>

- Shore, A., Day, R. D., Stewart, J. A., & Burgea, C. A. (2021). Dichotomy between Regulation of Coral Bacterial Communities and Calcification Physiology under Ocean Acidification Conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(6), 1–18. <https://doi.org/10.1128/aem.02189-20>
- Siboni, N., Ben-Dov, E., Sivan, A., & Kushmaro, A. (2008). Global distribution and diversity of coral-associated Archaea and their possible role in the coral holobiont nitrogen cycle. *Environmental Microbiology*, 10(11), 2979–2990. <https://doi.org/10.1111/J.1462-2920.2008.01718.X>
- Siboni, N., Ben-Dov, E., Sivan, A., & Kushmaro, A. (2012). Geographic Specific Coral-Associated Ammonia-Oxidizing Archaea in the Northern Gulf of Eilat (Red Sea). *Microbial Ecology*, 64(1), 18–24. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-0006-6>
- Soares, M. de O. (2020). Marginal reef paradox: A possible refuge from environmental changes? *Ocean & Coastal Management*, 185, 105063. <https://doi.org/10.1016/J.OCECOAMAN.2019.105063>
- Stambler, N. (2011). Zooxanthellae: The yellow symbionts inside animals. *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*, 87–106. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0114-4_7
- Sunagawa, S., Desantis, T. Z., Piceno, Y. M., Brodie, E. L., Desalvo, M. K., Voolstra, C. R., Weil, E., Andersen, G. L., & Medina, M. (2009). Bacterial diversity and White Plague Disease-associated community changes in the Caribbean coral *Montastraea faveolata*. *ISME J.*, 3(5), 512–521. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.131>
- Sunagawa, S., Woodley, C. M., & Medina, M. (2010). Threatened corals provide underexplored microbial habitats. *PLoS ONE*, 5(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009554>
- Tandon, K., Chiou, Y.-J., Yu, S.-P., Hsieh, H. J., Lu, C.-Y., Hsu, M.-T., Chiang, P.-W., Chen, H.-J., Wada, N., & Tang, S.-L. (2022). Microbiome Restructuring: Dominant Coral Bacterium Endozoicomonas Species Respond Differentially to Environmental Changes. *mSystems*, 7(4). <https://doi.org/10.1128/msystems.00359-22>
- Teeling, H., Fuchs, B. M., Becher, D., Klockow, C., Gardebrecht, A., Bennke, C. M., Kassabgy, M., Huang, S., Mann, A. J., Waldmann, J., Weber, M., Klindworth, A., Otto, A., Lange, J., Bernhardt, J., Reinsch, C., Hecker, M., Peplies, J., Bockelmann, F. D., ... Amann, R. (2012). Substrate-controlled succession of marine bacterioplankton populations induced by a phytoplankton bloom. *Science*, 336(6081), 608–611. <https://doi.org/10.1126/science.121834>
- Tejada Begazo, C. L. (2020). *Variación estacional del reclutamiento larval de corales (Anthozoa: Scleractinia) durante un ciclo anual en Bahía de los Ángeles, Golfo de California*. [Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio institucional. <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/3278>
- Thompson, J. R., Rivera, H. E., Closek, C. J., & Medina, M. (2014). Microbes in the coral holobiont: Partners through evolution, development, and ecological interactions. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00176>
- Thurber, R. V., Willner-Hall, D., Rodriguez-Mueller, B., Desnues, C., Edwards, R. A., Angly, F., Dinsdale, E., Kelly, L., & Rohwer, F. (2009). Metagenomic analysis of stressed coral holobionts. *Environ. Microbiol.*, 11(8), 2148–2163. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01935.x>
- van Oppen, M. J. H., & Blackall, L. L. (2019). Coral microbiome dynamics, functions and design in a changing world. *Nature Reviews Microbiology*, 17(9), 557–567. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0223-4>

- Vanwonderghem, I., & Webster, N. S. (2020). Coral Reef Microorganisms in a Changing Climate. *iScience*, 23(4). <https://doi.org/10.1016/J.ISCI.2020.100972>
- Voolstra, C. R., Miller, D. J., Ragan, M. A., Hoffmann, A. A., Hoegh-Guldberg, O., Bourne, D. G., Ball, E. E., Ying, H., Forêt, S., Takahashi, S., Weynberg, K. D., van Oppen, M. J. H., Morrow, K., Chan, C. X., Rosic, N., Leggat, W., Sprungala, S., Imelfort, M., Tyson, G. W., Fyffe, T. (2015). The ReFuGe 2020 Consortium-using “omics” approaches to explore the adaptability and resilience of coral holobionts to environmental change. *Frontiers in Marine Science*, 2. <https://doi.org/10.3389/fmars.2015.00068>
- Webster, N. S., Negri, A. P., Botté, E. S., Laffy, P. W., Flores, F., Noonan, S., Schmidt, C., & Uthicke, S. (2016). Host-associated coral reef microbes respond to the cumulative pressures of ocean warming and ocean acidification. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep19324>
- Wegley, L., Edwards, R., Rodriguez-Brito, B., Liu, H., & Rohwer, F. (2007). Metagenomic analysis of the microbial community associated with the coral *Porites astreoides*. *Environmental Microbiology*, 9(11), 2707–2719. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01383.x>
- Wiedenmann, J., D’Angelo, C., Smith, E. G., Hunt, A. N., Legiret, F. E., Postle, A. D., & Achterberg, E. P. (2012). Nutrient enrichment can increase the susceptibility of reef corals to bleaching. *Nature Climate Change* 2012 3:2, 3(2), 160–164. <https://doi.org/10.1038/nclimate1661>
- Zapata, F. A., & Lozano-Cortés, D. F. (2015). Occurrence of the coral *Porites panamensis* (Cnidaria: Scleractinia) in an estuarine environment of the Colombian Pacific. *Marine Biodiversity Records*, 8. <https://doi.org/10.1017/S1755267215001153>
- Ziegler, M., Grupstra, C. G. B., Barreto, M. M., Eaton, M., BaOmar, J., Zubier, K., Al-Sofyani, A., Turki, A. J., Ormond, R., & Voolstra, C. R. (2019). Coral bacterial community structure responds to environmental change in a host-specific manner. *Nature Communications* 2019 10:1, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10969-5>
- Ziegler, M., Seneca, F. O., Yum, L. K., Palumbi, S. R., & Voolstra, C. R. (2017a). Bacterial community dynamics are linked to patterns of coral heat tolerance. *Nature Communications*, 8. <https://doi.org/10.1038/ncomms14213>
- Ziegler, M., Seneca, F. O., Yum, L. K., Palumbi, S. R., & Voolstra, C. R. (2017b). Bacterial community dynamics are linked to patterns of coral heat tolerance. *Nature Communications*, 8(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/ncomms14213>
- Zirino, A., Hernández-Ayón, J. M., Fuhrmann, R. A., Álvarez-Borrego, S., Gaxiola-Castro, G., Lara-Lara, J. R., & Bernstein, R. L. (1997). Estimaciones superficiales de PCO₂ en el golfo de California a partir de mediciones continuas de pH e imágenes de satélite. *Ciencias Marinas*, 23(1), 1–22. <https://doi.org/10.7773/cm.v23i1.785>

Anexos

Protocolo Modificado para la Extracción de ADN Microbiano en Muestras de Coral

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Drenar el exceso de etanol de las muestras de coral almacenadas a -20°C .

Fragmentar las muestras en pedazos pequeños ($\sim 1\text{ cm}^2$) en un mortero de porcelana estéril.

Enjuagar los fragmentos a procesar con H_2O miliQ y almacenar las muestras restantes.

Pulverizar la muestra de coral con ayuda del mortero y mango de porcelana estériles.

Transferir la muestra a un microtubo de 1.5 mL y homogeneizar con ayuda de un pistilo de teflón estéril.

Extraer ADN de la muestra que consiste en una combinación de mucus, tejido y esqueleto.

PROCEDIMIENTO (DNeasy PowerSoil Pro) MODIFICADO

Centrifugar brevemente los tubos *PowerBead Pro* (esto asegura que las microesferas de vidrio de 0.1 mm se hayan asentado en el fondo del tubo).

Transferir 50 - 70 mg de muestra preparada a un tubo *PowerBead Pro*.

Añadir 800 μL de solución CD1 y 20 μL de lisozima (10 mg mL^{-1} [$10\text{ U } \mu\text{L}^{-1}$ concentración final]), agitar brevemente por Vortex e incubar 20 min a temperatura ambiente.

Añadir 30 μL de proteinasa K (20 mg mL^{-1} [0.8 mg mL^{-1} concentración final]) e incubar 4 horas a 65°C .

Añadir 400 mg de microperlas de vidrio (0.4 mm - 0.6 mm) y homogeneizar las muestras con ayuda de un FastPrep a 6.0 m s^{-1} durante 30 s.

Colocar la muestra en hielo durante 1 minuto y repetir el ciclo de homogeneización una vez más (6.0 m s^{-1} por 30 s).

Centrifugar las muestras durante 1 minuto a $15,000\text{ x g}$ a temperatura ambiente y transferir el sobrenadante a un tubo nuevo de 1.5 mL.

Centrifugar las muestras durante 2 minutos a $16,000\text{ x g}$ a temperatura ambiente y transferir el sobrenadante a un tubo nuevo de 2 mL.

Añadir 200 μL de solución CD2, mezclar brevemente por Vortex e incubar 5 min a 4°C .

Centrifugar 5 minutos a $>20,000\text{ x g}$ ($15,000\text{ rpm}$) a 4°C y transferir rápidamente el sobrenadante a un tubo nuevo de 1.5 mL evitando el pellet (transferir consecutivo: 1, 2, 3, n)

Repetir centrifugación (5 minutos a $>20,000\text{ x g}$ a 4°C) y transferir rápidamente el sobrenadante a un tubo nuevo de 2 mL evitando el pellet (transferir inverso: n, 3, 2, 1).

Añadir 600 μL de solución CD3, agitar brevemente por vortex e incubar por 5 min a 4°C .

Transferir 600 μL de la muestra a una columna MB colocada en un tubo de colecta de 2 mL y centrifugar 1 minuto a $15,000\text{ x g}$ temperatura ambiente.

Desechar el líquido y transferir los 650 μ L restantes de la muestra a la misma columna MB colocada en el mismo tubo de colecta de 2 mL y centrifugar 1 minuto a 15,000 x g temperatura ambiente.

Desechar el líquido y centrifugar 1 minuto a 15,000 x g temperatura ambiente una vez más o hasta que toda la muestra se haya pasado a través de la columna.

Colocar la columna en un tubo de colecta nuevo de 2 mL y añadir 500 μ L de solución EA.

Centrifugar 1 minuto a 15,000 x g temperatura ambiente y desechar el líquido.

Colocar la columna MB en el mismo tubo de colecta de 2 mL y añadir 500 μ L de solución C5.

Centrifugar 1 minuto a 15,000 x g temperatura ambiente y desechar el líquido.

Colocar la columna MB en un tubo de colecta nuevo de 2 mL y centrifugar 2 min a 16,000 x g.

Colocar la columna MB en un nuevo tubo de 1.5 ml y agregar 30 μ L de H₂O miliQ centro del filtro blanco de la membrana.

Incubar 5 min a temperatura ambiente y centrifugar a 15,000 xg por 2 min.

Pasar nuevamente los 30 μ L de muestra a través de la columna, incubar 2 min a temperatura ambiente y centrifugar a 15,000 x g por 2 min.



Figura 21. Estandarización realizada al protocolo de extracción del kit DNeasy PowerSoil Pro (Qiagen, Hilden, Germany) con las modificaciones realizadas por Sunagawa *et al.* (2010) y Reigel *et al.* (2021)

Tabla 8. Eucariotas identificadas utilizando blast.

Secuencia	Bit score	Cobertura (%)	E value	Porcentaje de similitud (%)	Identificación en Blast
TCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGATTCTGTCAAGAACAAGCGGTCCGCTCCATTG GAGTGTGATTTGCATCGTTTTGACTTCTCTGAACCTTATGTT GTTTTCCCTCACTGGGTAAGCAGCTGGGCAGAACCTTACTTT GAGAAAAATAGAGTGTTCAGCAGGCTAGCGCCTTGAATACT GCAGCATGGAATAAAGATAGGATTTCACTTCTATTTTATTGG TTCTAAGGACTGAGATAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGGCA TTCGTATTTAACTGTCAGAGGTGAAATCTTAGATTTGTTAAAGA CGAACTACTGCGAAAGCATTGGCAAGAATTTTTCAATCA AGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACG	750	99	0.0	98.58	Coral symbiont from Porites astreoides
TCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGATTCTGTCAAGAACAAGCGGTCCGCTCCCTTG GAGTGTGACTTGCCTGTTTTGACTTCTCTGAACCCCTGTT TTTTCCCTCACTGGGTAAGCAGCTGGGCAGAACCTTACTTT GAGAAAAATAGAGTGTTCAGCAGGCTAGCGCCTTGAATACT GCAGCATGGAATAAAGATAGGATTTCACTTCTATTTTATTGG TTCTAAGGACTGAGATAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGGCA TTCGTATTTAACTGTCAGAGGTGAAATCTTAGATTTGTTAAAGA CGAACTACTGCGAAAGCATTGGCAAGAATTTTTCAATCA AGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACG	730	99	0.0	97.63	Coral symbiont from Montastraea annularis
TCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGATTGTTGGCAGTCTTAGCGCCTGGCACCTAG TGCTAGTGTGCTGAAGTCGCCATCTTGGGTGGAGCCTGTG GGCATTAGTGTGCTGCAGGGGATACCCATCTTACTGTGAA AAAAATAGAGTGTTCAAAGCAGGCTTATGCCGTTGAATATTA GCATGGAATAAGAGATAGGACTTCTTTCTATTTTGGGTTTG CGCAAAGAGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCGT ATTCCATTGTCAGAGGTGAAATCTTGGATTTTGAAGACGAA CTACTGCGAAAGCATTACCAAGGATTTTTCAATCAAGAA CGAAAGTTAGGGGATCGAAGATG	658	100	0.0	94.99	Nitzschia biundulata
TCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGATTGTTGGCAGTCTTAGCGCCTGGCACCTAG TGCTAGTGTGCTGAAGTCGCCATCTTGGGTGGAGCCTGTG GGCATTAGTGTGCTGCAGGGGATACCCATCTTACTGTGAA AAAAATAGAGTGTTCAAAGCAGGCTTATGCCGTTGAATATTA GCATGGAATAAGAGATAGGACTTCTTTCTATTTTGGGTTTG CGCAAAGAGGTAATGATTAATAGGGACAGTTGGGGTATTCGT ATTCCATTGTCAGAGGTGAAATCTTGGATTTTGAAGACGAA CTACTGCGAAAGCATTACCAAGGATTTTTCAATCAAGAA CGAAAGTTAGGGGATCGAAGATG	725	100	0.0	97.85	Navicula tsukamotoi
TACCAGCTCTACAAGCATATGCAAAAGTTGCTGCGTTGAAAA GCTCATAGTTGGATCTGATGCTGTACTTATGGGTTAACTT TAACTACGTTATTTGCCATGTAGCATAGTCAACTGTTCCGTT GAGATTGATGCACTTAATTGTTGATTGATCGAGACGGAAAA TTTACCTGAGTAAATAGAGTGTTCAAAGCGTCCCTATCGGG ATACTGAATTAATAAGCATGGAATAATGGAGGATGTCGCTCT CTAAATAGCTGGTTGCTGGAGATGCGGTAATGATTAAGGAA CAGTTGGGGGCTTTGATTGCTACGTTAGAGGTGAAATCTTG GATCGTGGCAAGCAAACTACTGCGAAAGCATTGCGCAAGAA TTTTTCAATCAAGAACGAAAGTTAGAGCATTGAAGAGG	484	100	6e-132	87.05%	Postaphanostoma nilssoni
TCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGATTGTTGGGCGCCCGCCGCTCCGCCGCAAG GCGAGCACTGTCGGGCGCCCTTCTCGAAGGCTTCGACTGC TCTTATGTTGGTGTGAGGAGTTCCGGACGTTACTTTGAAA AAATAGAGTGTTCAGGCGCCGCTGGCCTGAATACATTAGC ATGGAATAATGGAAGAGGACTCGGCTCTATTTGTTGTTCC AGGGCCGAAGTAAATGATTGAGAGGGACAGTTGGGGGCTTCG TATTTAATTGTCAGAGGTGAAATCTCGGATTTAGAAAGACGA ACAAGTGCAGAAAGCATTGCGAAGGATTTTTCAATCAAGAA ACGAAAGTTGGGGGTTGCAAGACG	769	100	0.0	100%	Dercitus bucklandi
TCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGATTGTTGGGCGCCCGCCGCTCCGCCGCAAG GTATGTTACTGGCCGAGCTGTTCTTCTCGCAAGACTGTGTG GCTTTAACTGAGTGTGCTCAGGATCTGTGACGTTTACTTTGAA AAAAATAGAGTGTTCAAAGCAGCAGCGCTTGAATACATAAG CATGGAATAATGGAATAGGACTTTGGTCTATTTGTTGTTCT GGAACCTTAGTAAATGATTAAGAGAGACAGTTGGGGGCTTCG ATTTCTGTTGTCAGAGGTGAAATCTTGGATTTACGAAAGACGAA CTACTGCGAAAGCATTGCGAAGGATTTTTCAATCAAGAA CGAAAGTTAGAGGATCGAAGACG	769	100	0.0	100%	Stryphnus ponderosus
TCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGATTGTTGGGCGCCCGCCGCTCCGCCGCAAG GTATGTTACTGGCCGAGCTGTTCTTCTCGCAAGACTGTGTG GCTTTAACTGAGTGTGCTCAGGATCTGTGACGTTTACTTTGAA AAAAATAGAGTGTTCAAAGCAGCAGCGCTTGAATACATAAG CATGGAATAATGGAATAGGACTTTGGTCTATTTGTTGTTCT GGAACCTTAGTAAATGATTAAGAGAGACAGTTGGGGGCTTCG ATTTCTGTTGTCAGAGGTGAAATCTTGGATTTACGAAAGACGAA CTACTGCGAAAGCATTGCGAAGGATTTTTCAATCAAGAA CGAAAGTTAGAGGATCGAAGACG	771	100	0.0	100.00	Porites panamensis
TCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCGGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGACTTTGAGCGTCCCGGGTCCGTCGCCCTCG GGGCGCCGACCCGACCCGCTCAGCTTCTCGGGTCCGTCGCCG CGGCTGGGCTTAGCTGTCGGTCCGCGGTTCCGACCCGGTT ACTTTAGGAAAAATAGAGTGTTCAAAGCGTGCATCGCGTGAA TACGTCAGATGGAATAACACGACAGGCTGTGGCCACACCTG GGTGGTCTGTGTTCCGTAGCAATGATCGAGAGGAGCGGTC GGGGGCTTCGATTTCCAGTGTGAGAGGTGAAATCTTGGATT GTGGAAGGCAACATCTGCGAAAGCATTGCGAAGGATTTTC CGTTGATCAAGAACGAAAGTTGGGGGATCGAAGATG	665	100	0.0	94.86	Ostreobium sp

TTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCGAGTAAAAAG CTCGTAGTTGAATTTAGGAAAGTCAACTTTCCTGCTTCCCTCAC ATTTGCAACCGGTTGTTGCTTTTGACAAAGACTTTTACTGTGAG AAAATAAAGTGTCTCAAAGCAGGCTAACGCTGAATATTAAGC ATGGAATAATAGAATAGGACTTTTTCATTTTATGGTTATTGGA TAGAGTAATGATTAACAGAAACAGTTGGGGCATTCTGATTTAA TTGTCAGAGGTGGAATTTGTTGATTTAAGAACGAACTAGTG CGAAAGCATTGCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAG TTAGGGGATCAAAGACG	665	100	0.0	98.92	Ephelota gemmipara
TTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCGGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGATTCTGTTGAGGATAACCGGTCTGCCCTCTGG GTGTGCATCTGGCTCAGCCTTGACATCTTCTGAAGAACGTATC TGCACCTTGACTGTGTGGCGGATTTGGGACATTTACCTTGAGGA AATTAGAGTGTTCAGAACGAGCTGCGCTTGAATACATTAGCA TGGAAATAAAGTAGGACCTCATCTTATTTGTTGGTTCTAG AGCTGAGGTAATGATTGACAGGAGTAGTTGGGGCATTCTGAT TTAACTGTCAGAGGTGAAATTTCTGGATTTGTTAAGACCGGACT ACTGCGAAAGCATTGCAAGGATGTTTTCATTTGATCAAGAACG AAAGTTAGGGGATCGAAGACG	745	100	0.0	98.81	Symbiodinium goreau Cladocopium sp.
TTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCGGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGACTTGTGGTGTGAAGTGGCTTCCGAAATTTT CGGTGTTGCCCTTGGTCTCATCTTGGTGGAAATCTGCGTGG CATTAGGTTGCTGTCAGGGGATGCCCATCTTTACTGTGAAAA AATTAGAGCTGCTCAAAGCAGGCTTATGCCGTTGAATACATTAG CATGGGATAATGAGATAGTCTTTGGCTCTATTTTGGTTGGTTG CGGACGTGAGAAATGATTAAGGACAGGTTGGGGATTTGT ATTCCATTGTCAGAGGTGAAATCTTGGATTTATGGAAGACAAA CTACTGCGAAAGCATTACCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAA CGAAAGTTAGGGGATCGAAGATG	621	100	4e-173	93.54	Stauroneis kriegeri
TTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCGGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGACTCTCGGACAGATTTGGGGCGGTTAGTTGCTAC TATTACTGCCCTATAATCTGTAGTTTTTCCAGAGGTTTTAGGGT GCTCTTAATCGAGTGTCTGAGATGCTGGCAGGTTTACTTTGAA AAAATTAGAGTGTTCAAAGCAGGCTTAGTACGCTGAATATCTGT GCATGGAATAAAAAAGGAAAGTCTTCTATTTTGGTTGGTTTT CGGAAATCGACTTAATGATTAATAGGGACAGTGGGGGCAATTT GTATTCAAACGACAGAGGTGAAATCTTGGACCGTTTGAAGACA AACTACTGCGAAAGCATTGCAAGGATGTTTTCATTAATCAAG AACGAAAGTTAAAGGTTCAAGGCG	780	100	0.0	100.00	Canthocalanus pauper
TTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCGGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGACTCTCGGTCGGGCTGGCGGTCGCCGTCGCGC GGCAGTGCCTGTTCCGACCTACTCGCGCAGTCCCTCGGT GCTCTTCCGCTGAGTGCCCGGGTGGCCGGCGTTTACTTTGAA AAAATTAGAGTGTTCAAAGCAGGCTGCGCGCTGTATACCGAT GCATGGAATAATGGAATAGGACTCGGACTTATTTCTGCTGTT CTCTTCCGATCGGAGGTAATGATTAAGGGGACGCGCGGGG GCATTAGTATTACGGTGTAGAGGTGAAATCTTGGATCGCCGT AAGACTGCCAGTTGCGAAAGCATTGCAAGGATGTTTTCATTTG GTCAAGAGCGAAAGTCCGGTTCTCGAAGACG	667	100	0.0	95.09	Amphicorina ascidicola
TTCCAGCTCCAATAGCATATGTTAAAGTTGTTGCGGTTAAAAAG CTCGTAGTTGGATCTCGGCGCCGGGTCGGTTCGCTCTCTGG CGTACTGACCCACTGGGCGGTTTGGCGGAGGTCGCCGG GTGCTTTAACCGAGTGTCTGCGGCGCGTCAAGTTTACTTTG AAAAAATTAGAGTGTCTCAGGAGGCTTGACACGCTGAATAG TCGTGCATGGAATAATGGAATAGGACGCTGCTCTATTTTGTG GTTTTCGGATATCGACGTAATGATTAATAGGGACAGTGGGGG CATTAGTATTGACGACAGAGGTGAAATCTTGGACCGTCTGA AGACTCACTGCGAAAGCATTGCAAGGATGTTTTCATTAAT CAAGAACGAAAGTTAGAGGTTCAAGGCG	739	9	0.0	99.51	Arthropoda sp.

Tabla 9. Resultados de la extracción de ADN

Muestra	Sitio	Colonia	Repetición	Concentración DNA (ng/ μ L)	260/280	260/230
PPW22S1C1_1	1	1	1	27.5	1.92	0.18
PPW22S1C1_2	1	1	2	22.9	1.95	0.35
PPW22S1C1_3	1	1	3	26.9	1.93	0.14
PPW22S1C2_1	1	2	1	68.6	1.9	0.13
PPW22S1C2_2	1	2	2	20.4	1.85	0.16
PPW22S1C2_3	1	2	3	134.2	1.73	1.07
PPW22S1C3_1	1	3	1	23.8	1.81	0.26
PPW22S1C3_2	1	3	2	30.4	1.83	0.7
PPW22S1C3_3	1	3	3	35.8	1.86	1.08
PPW22S1C4_1	1	4	1	37.1	1.85	1.07
PPW22S1C4_2	1	4	2	69.3	1.89	0.1
PPW22S1C4_3	1	4	3	128.8	1.81	1.52
PPW22S1C5_1	1	5	1	90.7	1.85	0.5
PPW22S1C5_2	1	5	2	105.6	1.86	0.43
PPW22S1C5_3	1	5	3	83.9	1.89	0.22
PPW22S2C1_1	2	1	1	300.6	1.85	1.36
PPW22S2C1_2	2	1	2	236.1	1.86	0.45
PPW22S2C1_3	2	1	3	197	1.83	1.19
PPW22S2C21_1	2	2	1	86.7	1.81	0.63
PPW22S2C21_2	2	2	2	34.9	1.87	0.74
PPW22S2C21_3	2	2	3	121.3	1.84	0.36
PPW22S2C3_1	2	3	1	15	1.11	0.11
PPW22S2C3_2	2	3	2	27.7	1.06	0.09
PPW22S2C3_3	2	3	3	3.6	2.5	0.02
PPW22S2C4_1	2	4	1	95	1.86	0.24
PPW22S2C4_2	2	4	2	62.7	1.88	0.19
PPW22S2C4_3	2	4	3	91.1	1.7	0.35
PPW22S2C5_1	2	5	1	47.9	1.75	0.55
PPW22S2C5_2	2	5	2	30.2	1.94	0.29
PPW22S2C5_3	2	5	3	140.8	1.85	0.44
PPS22S1C1_1	1	1	1	37.2	1.87	0.23
PPS22S1C1_2	1	1	2	137.6	1.76	0.97
PPS22S1C1_3	1	1	3	100.2	1.81	0.2
PPS22S1C2_1	1	2	1	112.3	1.78	0.35
PPS22S1C2_2	1	2	2	74.9	1.86	0.16
PPS22S1C2_3	1	2	3	122.5	1.74	1.85
PPS22S1C3_1	1	3	1	106,00	1.77	0.51
PPS22S1C3_2	1	3	2	49,20	1.83	0.37
PPS22S1C3_3	1	3	3	68,60	1.85	0.22
PPS22S1C4_1	1	4	1	253,30	1.85	0.74
PPS22S1C4_2	1	4	2	132,70	1.85	0.58
PPS22S1C4_3	1	4	3	90,00	1.84	0.37
PPS22S1C5_1	1	5	1	330,10	1.85	0.67
PPS22S1C5_2	1	5	2	404,80	1.85	2.06
PPS22S1C5_3	1	5	3	113,40	1.83	0.21
PPS22S2C1_1	2	1	1	185,10	1.85	1
PPS22S2C1_2	2	1	2	76,10	1.87	0.9
PPS22S2C1_3	2	1	3	189,70	1.67	0.84
PPS22S2C21_1	2	2	1	182,20	1.81	0.46
PPS22S2C21_2	2	2	2	283,10	1.81	1.66

PPS22S2C21_3	2	2	3	180,20	1.85	0.75
PPS22S2C3_1	2	3	1	228,10	1.82	0.55
PPS22S2C3_2	2	3	2	203,80	1.81	1.02
PPS22S2C3_3	2	3	3	91,60	1.78	0.32
PPS22S2C4_1	2	4	1	209,70	1.8	0.96
PPS22S2C4_2	2	4	2	167,40	1.82	0.41
PPS22S2C4_3	2	4	3	113,20	1.83	0.28
PPS22S2C5_1	2	5	1	57,70	1.8	0.17
PPS22S2C5_2	2	5	2	129,40	1.69	0.18
PPS22S2C5_3	2	5	3	152,50	1.86	0.22

Tabla 10. Abundancia relativa del microbioma coralino de *Porites panamensis*.

Dominio	Filo	Clase	Orden	Familia	Género	Abundancia relativa
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	NA	10.335
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	NA	NA	NA	9.599
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Puniceispirillales	SAR116 clade	NA	8.736
Bacteria	Bacteroidota	Chlorobia	Chlorobiales	Chlorobiaceae	Prosthecochloris	6.549
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	NA	6.368
Archaea	Crenarchaeota	Nitrososphaeria	Nitrosopumilales	Nitrosopumilaceae	Candidatus Nitrosopumilus	5.211
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	NA	NA	NA	3.595
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	NA	NA	3.194
Bacteria	Acidobacteriota	Thermoanaerobaculia	Thermoanaerobaculales	Thermoanaerobaculaceae	Subgroup 10	1.360
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	NA	1.130
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Steroidobacterales	Woeseiaceae	Woeseia	1.123
Bacteria	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Phormidesmiales	Phormidesmiaceae	Phormidium MBIC10003	1.092
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Muricauda	0.989
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Ruegeria	0.983
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	NA	NA	0.937
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Kiloniellales	Kiloniellaceae	NA	0.884
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacterales	Vibrionaceae	Grimontia	0.838
Bacteria	Planctomycetota	Planctomycetes	Pirellulales	Pirellulaceae	NA	0.831
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Chitinophagales	Saprospiraceae	NA	0.815
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Aquibacter	0.711
Bacteria	Actinobacteriota	Acidimicrobiia	Actinomarinales	NA	NA	0.673
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Thalassobaculales	NA	NA	0.659
Archaea	Crenarchaeota	Nitrososphaeria	Nitrosopumilales	Nitrosopumilaceae	NA	0.642
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Defluviococcales	Defluviococcaceae	Defluviococcus	0.634
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Kiloniellales	Kiloniellaceae	Pelagibius	0.625
Bacteria	Campylobacterota	Campylobacteria	Campylobacterales	Arcobacteraceae	NA	0.609

Bacteria	Planctomycetota	OM190	NA	NA	NA	0.589
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Tistrellales	Geminicoccaceae	NA	0.552
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Vibrionaceae	Vibrio	0.540
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Cytophagales	Cyclobacteriaceae	Ekhidna	0.538
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Kiloniellales	Kiloniellaceae	Tistlia	0.536
Bacteria	Myxococcota	Myxococcia	Myxococcales	Myxococcaceae	P3OB-42	0.533
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Parvibaculales	PS1 clade	NA	0.511
Bacteria	Planctomycetota	Planctomycetes	Pirellulales	Pirellulaceae	Pir4 lineage	0.504
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	NA	0.497
Bacteria	Planctomycetota	Planctomycetes	Pirellulales	Pirellulaceae	Blastopirellula	0.481
Bacteria	NB1-j	NA	NA	NA	NA	0.453
Bacteria	Patescibacteria	Saccharimonadia	Saccharimonadales	NA	NA	0.442
Bacteria	Planctomycetota	Planctomycetes	Pirellulales	Pirellulaceae	Bythopirellula	0.442
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rubribacterium	0.430
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Cohaesibacter	0.422
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Cellvibrionaceae	NA	0.420
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Gammaproteobacteria Incertae Sedis	Unknown Family	NA	0.414
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methyloligellaceae	NA	0.414
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	BD7-8	NA	NA	0.412
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Haliaceae	NA	0.406
Bacteria	Actinobacteriota	Acidimicrobiia	Microtrichales	Microtrichaceae	NA	0.401
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Gammaproteobacteria Incertae Sedis	Unknown Family	Wenzhouxiangella	0.393
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	NA	NA	0.364
Bacteria	Actinobacteriota	Acidimicrobiia	Microtrichales	Ilumatobacteraceae	NA	0.360
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Winogradskyella	0.360
Bacteria	Chloroflexi	Chloroflexia	Chloroflexales	Chloroflexaceae	NA	0.359
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Cytophagales	Cyclobacteriaceae	NA	0.340
Bacteria	Campylobacterota	Campylobacteria	Campylobacteriales	NA	NA	0.334
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	NA	NA	NA	0.333

Bacteria	Actinobacteriota	Acidimicrobiia	Microtrichales	Microtrichaceae	Sva0996 marine group	0.321
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	UBA10353 marine group	NA	NA	0.320
Archaea	Nanoarchaeota	Nanoarchaeia	Woesearchaeales	NA	NA	0.315
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Burkholderiales	NA	NA	0.311
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	GKS98 freshwater group	0.303
Bacteria	Chloroflexi	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	NA	0.299
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Nitrincolaceae	Amphritea	0.291
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	0.291
Bacteria	Chloroflexi	Dehalococcoidia	SAR202 clade	NA	NA	0.283
Bacteria	Nitrospirota	Nitrospira	Nitrospirales	Nitrospiraceae	Nitrospira	0.274
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Cytophagales	Cyclobacteriaceae	Fulvivirga	0.268
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Nitrincolaceae	Neptuniibacter	0.267
Bacteria	Gemmatimonadota	BD2-11 terrestrial group	NA	NA	NA	0.267
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	KI89A clade	NA	0.256
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingorhabdus	0.252
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Seonamhaeicola	0.249
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Micavibrionales	Micavibrionaceae	NA	0.242
Bacteria	Chloroflexi	Anaerolineae	Caldilineales	Caldilineaceae	NA	0.242
Archaea	Crenarchaeota	Nitrososphaeria	Nitrosopumilales	Nitrosopumilaceae	Cenarchaeum	0.226
Bacteria	Bacteroidota	Rhodothermia	Rhodothermales	Rhodothermaceae	NA	0.217
Bacteria	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	Urania-1B-19 marine sediment group	0.216
Bacteria	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	NA	0.213
Bacteria	Myxococcota	Polyangia	Polyangiales	Sandaracinaceae	NA	0.212
Bacteria	Campylobacterota	Campylobacteria	Campylobacterales	Helicobacteraceae	NA	0.211
Bacteria	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Leptolyngbyales	Leptolyngbyaceae	NA	0.206
Bacteria	Planctomycetota	Planctomycetes	Pirellulales	Pirellulaceae	Rhodopirellula	0.201
Bacteria	Planctomycetota	Planctomycetes	Planctomycetales	Rubinisphaeraceae	NA	0.195

Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Peptostreptococcales-Tissierellales	Fusibacteraceae	Fusibacter	0.195
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacterales	Alteromonadaceae	NA	0.195
Bacteria	Acidobacteriota	Subgroup 22	NA	NA	NA	0.185
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Haliaceae	OM60(NOR5) clade	0.184
Bacteria	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Phormidesmiales	Phormidesmiaceae	Phormidesmis ANT.LACV5.1	0.182
Archaea	Crenarchaeota	Nitrososphaeria	Nitrosopumilales	Nitrosopumilaceae	Candidatus Nitrosopelagicus	0.179
Bacteria	Dadabacteria	Dadabacteriia	Dadabacterales	NA	NA	0.170
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Kiloniellales	Fodinicurvataceae	Fodinicurvata	0.170
Bacteria	Desulfobacterota	Desulfobulbia	Desulfobulbales	Desulfocapsaceae	NA	0.165
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Magnetospiraceae	NA	0.163
Bacteria	Desulfobacterota	Desulfovibrionia	Desulfovibrionales	Desulfovibrionaceae	Desulfovibrio	0.163
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Arenicellales	Arenicellaceae	Arenicella	0.156
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Tenderiales	Tenderiaceae	Candidatus Tenderia	0.154
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Pseudahrensia	0.154
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	OM182 clade	NA	0.154
Bacteria	Planctomycetota	Planctomyces	Pirellulales	Pirellulaceae	Rubripirellula	0.150
Bacteria	Acidobacteriota	Vicinamibacteria	Vicinamibacterales	NA	NA	0.148
Bacteria	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraceae	Phycisphaera	0.140
Bacteria	Campylobacterota	Campylobacteria	Campylobacterales	Arcobacteraceae	Halarcobacter	0.139
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Parvularculaceae	NA	0.139
Bacteria	Actinobacteriota	Thermoleophilia	Gaiellales	NA	NA	0.138
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Saccharospirillaceae	Thalassolituus	0.138
Bacteria	Planctomycetota	Planctomyces	Planctomycetales	Rubinisphaeraceae	Fuerstia	0.136
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Arenicellales	Arenicellaceae	NA	0.135
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Roseitalea	0.132
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Spongiivirga	0.132
Bacteria	Chloroflexi	JG30-KF-CM66	NA	NA	NA	0.131
Bacteria	Nitrospinota	Nitrospina	Nitrospinales	Nitrospinaceae	Nitrospina	0.129

Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Chitinophagales	Saprospiraceae	Portibacter	0.126
Bacteria	Planctomycetota	NA	NA	NA	NA	0.125
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Hyphomonadaceae	Hyphomonas	0.123
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Shimia	0.122
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacterales	Colwelliaceae	Thalassotalea	0.122
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Ulvibacter	0.120
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacterales	Vibrionaceae	NA	0.119
Bacteria	Verrucomicrobiota	Kiritimatiellae	WCHB1-41	NA	NA	0.119
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	HOC36	NA	NA	0.117
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Hyphomonadaceae	NA	0.117
Bacteria	Myxococcota	Polyangia	Nannocystales	Nannocystaceae	NA	0.117
Bacteria	Patescibacteria	Gracilibacteria	NA	NA	NA	0.115
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Cytophagales	NA	NA	0.114
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Crocinitomicaceae	Crocinitomix	0.114
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Pseudoceanicola	0.113
Bacteria	Actinobacteriota	Acidimicrobiia	Microtrichales	Ilumatobacteraceae	Ilumatobacter	0.111
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacterales	Pseudoalteromonadaceae	Algicola	0.111
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Filomicrobium	0.110
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacterales	Kangiellaceae	Aliikangiella	0.110
Bacteria	Planctomycetota	Planctomycetes	Planctomycetales	NA	NA	0.108
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Burkholderiales	Nitrosomonadaceae	NA	0.106
Bacteria	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Rubritaleaceae	Rubritalea	0.106
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methyloligellaceae	Methyloceanibacter	0.105
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Nitrosococcales	Nitrosococcaceae	NA	0.105
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Cytophagales	Amoebophilaceae	Candidatus Amoebophilus	0.104
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Chromatiaceae	Candidatus Thiobios	0.104
Bacteria	Actinobacteriota	Acidimicrobiia	Microtrichales	NA	NA	0.102
Bacteria	PAUC34f	NA	NA	NA	NA	0.099
Bacteria	Acidobacteriota	Subgroup 26	NA	NA	NA	0.098

Bacteria	Planctomycetota	Phycisphaerae	Phycisphaerales	Phycisphaeraeaceae	SM1A02	0.098
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Chitinophagales	Saprospiraceae	Lewinella	0.096
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Hoeflea	0.096
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	AT-s3-44	NA	NA	0.094
Bacteria	Chloroflexi	Anaerolineae	SBR1031	A4b	NA	0.094
Bacteria	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Rubritaleaceae	Persicirhabdus	0.094
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Chitinophagales	NA	NA	0.093
Bacteria	Actinobacteriota	Actinobacteria	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	0.093
Bacteria	Myxococcota	Polyangia	Haliangiales	Haliangiaceae	Haliangium	0.093
Bacteria	Verrucomicrobiota	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	DEV007	NA	0.092
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	AT-s2-59	NA	NA	0.091
Bacteria	Desulfobacterota	Desulfobulbia	Desulfobulbales	Desulfocapsaceae	Desulforhopalus	0.090
Bacteria	Chloroflexi	KD4-96	NA	NA	NA	0.089
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Peptostreptococcales- Tissierellales	Caminicellaceae	Paramaledivibacter	0.087
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudohongiellaceae	Pseudohongiella	0.086
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Croceitalea	0.085
Bacteria	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Phormidesmiales	Phormidesmiaceae	Acrophormium PCC-7375	0.084
Bacteria	Bdellovibrionota	Bdellovibrionia	Bdellovibrionales	Bdellovibrionaceae	OM27 clade	0.083
Bacteria	Dependentiae	Babeliae	Babeliales	NA	NA	0.082
Bacteria	Planctomycetota	Planctomycetes	Planctomycetales	Gimesiaceae	NA	0.081
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Erythrobacter	0.081
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Defluviicoccales	NA	NA	0.079
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Halieaceae	Pseudohaliea	0.078
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Terasakiellaceae	NA	0.078
Bacteria	Acidobacteriota	Acidobacteriae	PAUC26f	NA	NA	0.077
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Stappiaceae	Labrenzia	0.077
Bacteria	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Xenococcaceae	Chroococcidiopsis PCC-6712	0.076
Bacteria	Planctomycetota	Pla3 lineage	NA	NA	NA	0.076

Bacteria	Acidobacteriota	Vicinamibacteria	Subgroup 9	NA	NA	0.074
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Parvibaculales	Parvibaculaceae	NA	0.072
Bacteria	Cyanobacteria	Cyanobacteriia	Cyanobacteriales	Xenococcaceae	Pleurocapsa PCC-7319	0.072
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	NA	NA	0.072
Bacteria	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Kordia	0.071
Bacteria	Actinobacteriota	Actinobacteria	Micrococcales	Micrococcaceae	Kocuria	0.070
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	0.070
Bacteria	Acidobacteriota	Holophagae	Acanthopleuribacterales	Acanthopleuribacteraceae	Acanthopleuribacter	0.070
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiales Incertae Sedis	Anderseniella	0.070
Bacteria	Actinobacteriota	Actinobacteria	Propionibacteriales	Propionibacteriaceae	Cutibacterium	0.069
Bacteria	Verrucomicrobiota	Lentisphaeria	Victivallales	Arctic95B-14	NA	0.067
Bacteria	Verrucomicrobiota	Chlamydiae	Chlamydiales	Simkaniaceae	Candidatus Fritschea	0.067
Bacteria	Bdellovibrionota	Bdellovibrionia	Bacteriovorales	Bacteriovoraceae	NA	0.067
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Spongiibacteraceae	NA	0.066
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	NA	0.066
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Kordiimonadales	Kordiimonadaceae	Kordiimonas	0.064

