

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 SECIHTI (Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación).

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 de Autor.

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



**Doctorado en Ciencias
en Ciencias de la Vida con
orientación en Microbiología**

**Estructura y función de las comunidades de bacterias y
arqueas en las zonas mesopelágica y batipelágica del golfo de
México**

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

Presenta:

Lizt Selene Sibila Osorio Pando

Ensenada, Baja California, México

2025

Tesis defendida por
Lizt Selene Sibila Osorio Pando

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. María Asunción Lago Lestón
Directora de tesis

Dr. Víctor Froylán Camacho Ibar

Dr. Helmut Maske Rubach

Dra. Laura Gómez Consarnau

Dra. Fadia Sara Ceccarelli



Dr. Edgardo Alfredo Sepúlveda Sánchez Hidalgo
Coordinador del Posgrado en Ciencias de la Vida

Dra. Ana Denise Re Araujo
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Lizt Selene Sibila Osorio Pando** como requisito parcial para la obtención del grado de Doctora en Ciencias en Ciencias de la Vida con orientación en Microbiología.

Estructura y función de las comunidades de bacterias y arqueas en las zonas mesopelágica y batipelágica del golfo de México

Resumen aprobado por:

Dra. María Asunción Lago Lestón
Directora de tesis

El golfo de México (GdM) es una cuenca oceánica compleja, con un sistema hidrodinámico único, y constituido por diferentes masas de agua con características fisicoquímicas distintivas. Estas características afectan a como las comunidades microbianas se distribuyen a lo largo de estas masas de agua y su respuesta funcional ante cambios ambientales. Aunque ya existen algunos trabajos que han estudiado comunidades microbianas en el GdM, pocos de ellos se centran en las aguas mas profundas para entender estas dinámicas. El presente estudio caracterizó la estructura y potencial funcional de comunidades de bacterias y arqueas de las zonas mesopelágica (200–1000 m) y batipelágica (1000–4000 m), de la Zona Económica Exclusiva Mexicana. Mediante secuenciación de la región V4 del gen 16S ARNr, (se analizaron 95 muestras de agua colectadas a 4 profundidades en tres campañas oceanográficas, XIXIMI-05, -06, -07). De éstas se seleccionaron 18 para reconstruir genomas a partir de metagenomas (MAGs) *shotgun*. Nuestros resultados mostraron una estratificación vertical donde las arqueas Nitrosopumilales (Thermoproteota), vinculadas a la oxidación de amonio y descritas por primera vez en esta zona, dominaron la zona mesopelágica (26.9%), mientras que bacterias como Alteromonadales (Gammaproteobacteria) asociadas, entre otras cosas, a la degradación de materia orgánica recalcitrante, predominaron en la zona batipelágica (13.5%). Factores ambientales como profundidad, salinidad absoluta, consumo aparente de oxígeno y temperatura conservativa estructuraron las comunidades ($p < 0.001$). La zona batipelágica mostró alta heterogeneidad taxonómica, con microhábitats vinculados potencialmente a filtraciones naturales de hidrocarburos, evidenciados por la abundancia de géneros hidrocarbonoclasticos (p. ej. *Alcanivorax*, *Oleibacter*) y metanotróficos (*Methylococcales*). Los MAGs revelaron predominio de metabolismos heterótrofos (oxidación de carbono orgánico, fermentación), y en menor cantidad de mixótrofos, destacando el género *Arctic96AD-7* (filo SAR324) con capacidad para fijar CO_2 mediante RuBisCO. Los ciclos biogeoquímicos evidenciaron: i) en nitrógeno, predominó la retención mediante reducción disimilatoria de nitrato a amonio (DNRA, 24% MAGs) sobre procesos de desnitrificación; ii) en azufre, dominó la oxidación de compuestos reducidos (S^0 , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$; 71.4% MAGs), con un MAG de *Thioglobus_C* con la capacidad de realizar cinco transformaciones simultáneas; iii) en metano, se registró ausencia de metanogénesis pero presencia de metanotrofia en múltiples filios (25% MAGs). Las arqueas, aunque escasamente representadas en MAGs (10%), mostraron un papel clave en el ciclo carbono (metanotrofia en *MGI1b-Q1*). La redundancia funcional detectada sugiere estabilidad biogeoquímica ante perturbaciones. Este estudio establece una línea base para evaluar impactos antropogénicos (derrames de hidrocarburos, cambio climático) y resalta la importancia ecológica de estos microorganismos en la remineralización de nutrientes y mitigación de metano en el GdM.

Palabras clave: Comunidades de bacterias y arqueas, golfo de México, zona mesopelágica, zona batipelágica, metagenómica.

Abstract of the thesis presented by **Lizt Selene Sibila Osorio Pando** as a partial requirement to obtain the Doctor of Science degree in Life Science with orientation in Microbiology

Structure and function of bacterial and archaeal communities in the mesopelagic and bathypelagic zones of the Gulf of Mexico

Abstract approved by:

Dra. María Asunción Lago Lestón
Thesis Director

The Gulf of Mexico (GoM) is a complex oceanic basin with a unique hydrodynamic system and distinct water masses characterized by specific physicochemical properties. These properties affect the distribution of microbial communities and their functional responses to environmental changes. Although previous studies have examined microbial communities in the GoM, few have focused on deeper waters to understand these dynamics. This study characterized the structure and functional potential of bacterial and archaeal communities in the mesopelagic (200–1000 m) and bathypelagic (1000–4000 m) zones of Mexico's Exclusive Economic Zone. Through sequencing of the V4 region of the 16S ARNr gene, a total of 95 water samples collected at four depths during three campaigns (XIXIMI-05, -06, -07) were analyzed. Of these, 18 samples were selected to reconstruct genomes from metagenomes (MAGs). Results revealed vertical stratification with ammonia-oxidizing archaea Nitrosopumilales (Thermoproteota), reported here for the first time in this region, dominated the mesopelagic zone (26.9%), while bacteria such as Alteromonadales (Gammaproteobacteria), associated with recalcitrant organic matter degradation, prevailed in the bathypelagic zone (13.5%). Environmental factors (depth, absolute salinity, apparent oxygen utilization, conservative temperature) significantly shaped the communities ($p < 0.001$). The bathypelagic zone exhibited high taxonomic heterogeneity, with microhabitats potentially linked to natural hydrocarbon seeps, evidenced by abundant hydrocarbonoclastic (e.g., *Alcanivorax*, *Oleibacter*) and methanotrophic (*Methylococcales*) genera. The MAG analysis revealed a predominantly heterotrophic metabolisms (organic carbon oxidation, fermentation) and to a lesser extent mixotrophy, highlighting the presence of the genus *Arctic96AD-7* (phylum SAR324) demonstrating CO₂ fixation via RuBisCO. The main biogeochemical cycles included: i) nitrogen retention over denitrification, dominated by dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA; 24% MAGs); ii) sulfur oxidation of reduced compounds (S⁰, S₂O₃²⁻; 71.4% MAGs), including a *Thioglobus_C* MAG capable of undergo five simultaneous transformations; and iii) absence of methanogenesis but presence of methanotrophy across multiple phyla (25% MAGs). Archaea although sparsely represented in MAGs (10%) played key role in the carbon cycle (e.g., methanotrophy in MGIIb-Q1). The functional redundancy detected suggests biogeochemical stability in the face of disturbances. This study establishes a baseline for assessing anthropogenic impacts (hydrocarbon spills, climate change) and highlights the ecological importance of these microorganisms in nutrient remineralization and methane mitigation in the GoM.

Keywords: Bacterial and archaeal communities, Gulf of Mexico, mesopelagic zone, bathypelagic zone, metagenomics.

Dedicatoria

A mi papá.

A todos los venezolanos, a sus duelos compartidos, a nuestro dolor guardado en silencio; a los pilares que nos sostienen en la distancia, al canto que resiste al llanto, y a todas las luces inesperadas que brotan desde el exilio

Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), con número de becario 756723, por el apoyo económico brindado durante los cuatro años de mi doctorado, así como al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE) por recibirme y permitirme realizar mis actividades de investigación.

A mi directora de tesis, la Dra. Asunción Lago Lestón, responsable del Laboratorio de Metagenómica por aceptarme como estudiante de doctorado en su grupo de investigación y por brindarme la oportunidad de adentrarme en las profundidades del océano. Este trabajo no solo representó un crecimiento académico, sino que el desarrollo personal durante el doctorado resultó invaluable.

A mi comité de tesis, integrado por el Dr. Víctor Froylán Camacho Ibar, el Dr. Helmut Maske Rubach, la Dra. Laura Gómez Consarnau y la Dra. Fadia Sara Ceccarelli, les expreso mi profundo agradecimiento por su invaluable guía y por invitarme a comprender el océano desde perspectivas que siempre me sorprendieron.

Agradezco al Consorcio de Investigación del Golfo de México y al Fondo sectorial CONAHCYT-SENER-HIDROCARBUROS (proyecto 201441) por el financiamiento con el que se llevó a cabo este proyecto.

Al laboratorio de biogeoquímica de nutrientes del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO de la UABC) dirigido por el Dr. Víctor Camacho Ibar por colaborar con los análisis de nutrientes.

Un especial agradecimiento al Dr. Mario Hernández-Guzmán y a la Dra. Karla Sidón Ceseña, no solo por su asistencia en la organización del manuscrito y la coherencia estructural del artículo, sino también por su invaluable acompañamiento y calidez humana en cada etapa.

A la M.Sc. Yamne Ortega Saad, técnico del laboratorio de Metagenómica del CICESE, por su apoyo en las primeras etapas de este trabajo, incluyendo la extracción del ADN y la secuenciación; y a la Dra. Jennyfers Chong Robles, por su colaboración en dicha fase; y al resto del personal del laboratorio, en particular a Arlette, Pachi, Bernardo y Valentín, por su valioso acompañamiento durante el desarrollo de esta investigación.

A mi familia, porque estos últimos años hemos aprendido a apoyarnos; poco a poco hemos entendido qué significa amarnos. Sin ustedes no sería lo que soy, ni lo que seré. Estoy agradecida de que seamos uno. Todo lo que amo de mí, viene de ustedes.

A Emanuel Ramírez Quiroz, quien durante muchos años de mi estancia en este país me brindó algo que jamás había poseído, un refugio seguro. Podría parecer sencillo, pero para mí significó el parteaguas que me condujo hacia la calma. Y fue en esa calma donde pude verme, entenderme, conectar con mis emociones; fue en esa calma donde comprendí lo que quería hacer.... Reconozco que probablemente te llevaste la peor parte de convivir con una persona haciendo un doctorado. Gracias... y perdón.

A María Pachiadaki y Emil Ruff, porque en medio del desierto en el que se encontraba mi espíritu, cayeron como lluvia. Nutrieron de nuevo mi curiosidad, mi amor por lo que hago. Gracias, gracias, gracias por sacarme del inframundo. Sin ustedes y sus corazones, yo me habría perdido. Mi brújula agarró dirección de nuevo. María, fuerte y vulnerable al mismo tiempo. Navegar contigo es navegar segura, acompañada, en equipo, sacas lo mejor de mí.

A Tom Armour, no sé por dónde empezar para agradecer todo lo que has hecho por mí, creo que tú ni tienes idea. Confiaste en mí, me diste el GRAN regalo de no sentirme culpable cuando me equivocaba; gracias a ti entendí que errar es parte del proceso de aprender. Y eso, querido amigo, para una persona cuya mente estaba diseñada para sentir vergüenza por sus errores, es un grito de libertad. Finalmente me di el permiso para ser un ser humano. Pero como digo, son muchas las cosas que quiero agradecerte, aunque en este momento solo se me viene esta a la cabeza.

A Omar, porque aún cuando te fuiste, aún cuando librabas tus propias batallas, fuiste columna, me sostenías, me apoyabas, me ofrecías tu cariño y alimento interno. Eres tierra fértil amigo; todo lo que está a tu alrededor se nutre.

A todas aquellas personas con las que he compartido sobre las olas, danzando en su superficie mientras fluíamos con su poder. Les agradezco su compañía, enseñanzas, amistad, risas y ese cuidado mutuo. Pero sobre todo, agradezco esos instantes en los que te sientes uno con el mar, el cuerpo mojado por aguas frías, el cielo reflejado, el viento trayendo mensajes de otras latitudes; cuando miras hacia abajo y ves peces anaranjados. Esos momentos efímeros de plenitud son los que dan sentido a todo.

A todas aquellas personas que contribuyeron, de una u otra manera, a este tejido que representa la realización de un proyecto. Una de las lecciones más valiosas que aprendí durante esta tesis es que no solo los microorganismos viven en comunidad; nosotros, como especie, formamos parte de un todo. Todos y todo esta conectado, y lo que me sucede a mí, de alguna forma, también le sucede al mundo. Agradezco todas las influencias recibidas, porque sin ellas este presente no sería posible.

A Mistral, mi incondicional amigo, mi compañero de aventuras, siempre conmigo, leal, sin máscaras, sin intereses, tan puro, tan inocente, tan tú. Eres como un espejo, cuando estoy bien, tú estás bien; cuando estoy triste, suspiras; cuando estoy estresada o con miedo, peleas con todos. Gracias por cuidarme, eres mi protector. Gracias a ti no me siento sola.

Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Lista de figuras	x
Lista de tablas.....	xiv
Capítulo 1. Introducción general	1
1.1 Los Dominios <i>Bacteria</i> y <i>Archaea</i>	2
1.2 Estudios de bacterias y arqueas en ecosistemas marinos	3
1.3 El golfo de México	4
1.4 Justificación	7
1.5 Subtema 1: Caracterización de la estructura de las comunidades de bacterias y arqueas en el golfo de México, mediante metabarcoding	7
1.6 Subtema 2: Caracterización del potencial funcional de las bacterias y arqueas del golfo de México a través de genomas ensamblados a partir de metagenomas (MAGs)	10
Capítulo 2. Metodología	13
2.1 Subtema 1: Del análisis de las comunidades mediante amplificación de la región V4 del gen 16S del ARNr (<i>metabarcoding</i>).....	13
2.1.1 Sección experimental	13
2.1.2 Análisis bioinformáticos.....	16
2.2 Subtema 2: Del análisis del potencial funcional de genomas de bacterias y arqueas a partir de MAGs.....	20
2.2.1 Selección de las muestras.....	20
2.2.2 Preparación de las bibliotecas y secuenciación	21
2.2.3 Análisis bioinformáticos.....	21

2.2.4	Control de calidad de las lecturas.....	22
2.2.5	Ensamblaje de las lecturas.....	23
2.2.6	Binning.....	23
2.2.7	Asignación taxonómica de los bins.....	25
2.2.8	Anotación funcional y análisis biogeoquímicos.....	25
Capítulo 3. Resultados		27
3.1	Subtema 1: De la caracterización de las comunidades de bacterias y arqueas, mediante <i>metabarcoding</i>	27
3.1.1	Contexto fisicoquímico	27
3.1.2	Análisis moleculares	28
3.1.3	Secuenciación y control de calidad.....	28
3.1.4	Asignación taxonómica.....	30
3.1.5	Análisis de diversidad microbiana	32
3.1.6	Efecto de las variables ambientales en las comunidades de bacterias y arqueas.....	38
3.1.7	Análisis de co-ocurrencias	40
3.1.8	La comunidad de arqueas.....	42
3.1.9	Potencial funcional de las comunidades	47
3.2	Subtema 2: De la caracterización del potencial funcional de genomas de bacterias y arqueas partir de MAGs.....	49
3.2.1	Selección de las muestras.....	49
3.2.2	Secuenciación y análisis de secuencias.....	49
3.2.3	Control de calidad de las lecturas.....	51
3.2.4	Ensamblaje de las Lecturas.....	52
3.2.5	Mapeo de lecturas a contigs.....	54
3.2.6	Binning y consolidación y evaluación de los bins	55
3.2.7	Asignación taxonómica.....	62
3.2.8	Anotación funcional y análisis de ciclos biogeoquímicos	66

Capítulo 4. Discusión	78
4.1 Subtema 1: De la caracterización de la estructura de las comunidades de bacterias y arqueas, mediante <i>metabarcoding</i>	78
4.1.1 Las zonas mesopelágica y batipelágica del GdM está dominada por un reducido conjunto de taxones	78
4.1.2 La zona batipelágica del GdM es altamente heterogénea en términos composicionales	79
4.1.3 El gradiente fisicoquímico vertical y factores regionales moldearon las comunidades de bacterias y arqueas de la zona afótica del GdM	80
4.1.4 Arqueas desconocidas dominaron las zonas mesopelágica y batipelágica del GdM	82
4.1.5 El potencial funcional del microbioma del mesopelágico y batipelágico del GdM es homogéneo.	84
4.2 Subtema 2: De la caracterización del potencial funcional de bacterias y arqueas a través de MAGs	84
4.2.1 Diversidad taxonómica de los los MAGs caracterizados	84
4.2.2 Las funciones de las comunidades de bacterias y arqueas de la zona profunda del GdM son potencialmente heterótrofas o mixótrofas	87
Capítulo 5. Conclusiones	92
5.1 Subtema 1: De la caracterización de las comunidades de bacterias y arqueas, mediante <i>metabarcoding</i>	92
5.2 Subtema 2: De la caracterización del potencial funcional de bacterias y arqueas a partir de MAGs	93
Literatura citada.....	94
Anexos	120

Lista de figuras

Figura	Página
1. Masas de agua en el golfo de México según lo reportado por Portela et al. (2018)	5
2. Ubicación geográfica de las estaciones de colecta de agua de mar dentro de la región de aguas profundas de la zona económica exclusiva mexicana. Los colores representan las campañas oceanográficas: XIXIMI-05 (naranja), XIXIMI-06 (amarillo) y XIXIMI-07 (verde).....	14
3. Gráfica de curvas de rarefacción por muestra agrupado por profundidad: Zona de Mínimo de Oxígeno Relativos (ZMOR), 800 m, 1000 m y FONDO.	30
4. Gráfico de barras del promedio de la abundancia relativa (%) de los órdenes de bacterias y arqueas por profundidad. "Otros" indica grupos con <1% de abundancia relativa.	31
5. Gráfica de barras de la abundancia relativa de bacterias y arqueas a nivel de orden por estación. "Otros" indica órdenes con <1% de abundancia relativa.	33
6. Índices de diversidad alfa de las comunidades de bacterias y arqueas en las diferentes profundidades. La mediana está representada por la línea central en el diagrama de caja y bigotes; los valores de F y p corresponden a la prueba de ANOVA, mientras que los valores de p en la parte superior indican diferencias significativas entre comparaciones por pares de profundidades (prueba HSD de Tukey, $p < 0,05$).	34
7. Gráficos de ordenación mediante escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) basados en las distancias UniFrac ponderadas y no ponderadas de las comunidades de bacterias y arqueas en las diferentes profundidades. Las estaciones etiquetadas representan aquellas que se encuentran solapadas dentro de otra profundidad, diferente de la que les corresponde. 35	
8. Distribución de los ASVs de bacterias y arqueas en las distintas profundidades mediante gráficos UpSet. Para la a) comunidad total; b) biósfera dominante (ASVs $\geq 1\%$ de abundancia relativa en al menos una muestra y abundancia media $\geq 0.1\%$ por profundidad); y c) biósfera rara (ASVs $\leq 0.01\%$ por muestra y $\leq 0.001\%$ por profundidad).	36
9. Gráfico de barras del promedio de la abundancia relativa de los 89 ASVs compartidos por todas las profundidades (ZMOR, 800 m, 1000 m y FONDO) de la biosfera dominante. Las barras asignadas a ASVs restantes se corresponden a la abundancia relativa promedio de todos los ASVs restantes que constituyen cada profundidad.	37
10. Diagrama de ordenación del análisis db-RDA para las comunidades de bacterias y arqueas por profundidades en correlación con variables ambientales. Para a) Todos los ASVs b) ASVs de biosfera dominantes y c) ASVs de biosfera rara. Las variables ambientales mostradas fueron seleccionadas tras un análisis de multicolinealidad ($VIF < 5$). CAO (consumo aparente de oxígeno); SA (salinidad absoluta); PSM (profundidad del suelo marino).	39
11. Distribución de las correlaciones positivas y negativas de las comunidades de bacterias y arqueas por profundidad. El área turquesa corresponde al porcentaje de correlaciones positivas y el área rosa a las negativas.....	41

12. Características topológicas de las redes. a) *Degree* , b) *closeness centrality* y c) *betweenness centrality*. Los puntos rojos indican estaciones con valores atípicos que están más allá de 1.5 veces el rango intercuartil. Los valores en la parte superior de los diagramas de caja corresponden a los valores de p ajustados con Holm de las comparaciones por pares a través del Wilson test entre las profundidades. 42
13. Gráfico de barras del promedio de las abundancias relativas de los filos, clases, órdenes y familias de arqueas en las distintas profundidades. 43
14. Gráfico de burbujas de la abundancia relativa de los principales géneros de arqueas por estaciones y profundidades. El tamaño de cada burbuja representa la abundancia relativa (%) de cada género por estación. Las barras de colores del lado izquierdo de la figura representan los filos al que pertenecen cada género. 44
15. Índices de diversidad alfa de la comunidad de arqueas en las diferentes profundidades. La mediana está representada por la línea central en el diagrama de caja y bigotes; los valores de F y p corresponden a la prueba de ANOVA, mientras que los valores de p en la parte superior indican diferencias significativas entre comparaciones por pares de profundidades (prueba HSD de Tukey, $p < 0,05$). 45
16. Mapa de calor mostrando los 20 filotipos de arqueas con los mayores valores de *effect size* para cada par de profundidades, analizados con ALDEx2. Las filas representan los 20 filotipos con valores de *effect size* ≥ 1 , y las columnas (estaciones) las cuales se ordenaron mediante agrupamiento jerárquico. Los valores del *effect size* se indican mediante una escala de color morado en las barras laterales derechas, mientras que las abundancias se representan como *Z-scored, CLR Transformed Abundance*. 46
17. Mapa de calor de las 24 rutas metabólicas predichas con PICRUST2 que son significativa y diferencialmente abundantes entre las profundidades ZMOR y FONDO. Las filas representan las 24 rutas con valores de *effect size* ≥ 1 , y las columnas (estaciones) las cuales se ordenaron mediante agrupamiento jerárquico. Los valores del *effect size* se indican mediante una escala de color morado en las barras laterales derechas, mientras que las abundancias se representan como *Z-scored, CLR Transformed Abundance*. 48
18. Mapa de las estaciones seleccionadas para será analizadas por medio de *shotgun*. Las estaciones encerradas en un rectángulo con borde de líneas de guiones y puntos corresponden a aquellas ubicadas en región corriente de lazo, con borde de línea sólida son estaciones en la región norte, línea punteada en la región centro, y las del sur con borde de línea de guiones. 49
19. Número de lecturas retenidas en cada paso de control de calidad para las 18 muestras analizadas. 51
20. Métricas de ensamblaje metagenómico para las muestras A4-1000 y C22-1000 utilizando diferentes configuraciones de MEGAHIT. a) El panel izquierdo muestra el número total de contigs (barras rojas) y el número de contigs $\geq 50\ 000$ bp (barras azules) en escala logarítmica. El panel derecho presenta la longitud total del ensamblaje en megabases (Mb). b) Valores de N50 (verde) y L50 (rosa) para cada configuración de ensamblaje. Las configuraciones de MEGAHIT evaluadas fueron: default, large y sensitive. 53

21. Distribución comparativa de *bins* generados por CONCOCT, MaxBin2 y MetaBAT2 antes (panel de arriba) y después de la consolidación con Das Tool (panel de abajo), por muestra y profundidad. Las barras color naranja representan los *bins* generados por la herramienta CONCOCT, verde MaxBin2, y azul MetaBAT2. 58
22. Distribución de *bins* recuperados luego del proceso de consolidación con Das Tool. A la izquierda se muestra el número de *bins* por estación de muestreo y profundidad. Derecha, distribución total de *bins* por profundidad. Los *bins* correspondientes a la profundidad ZMOR están representadas en color azul claro, 1000 m en azul medio, y FONDO azul oscuro..... 59
23. Distribución de las características de los *bins* recuperados del proceso de consolidación con Das Tool y evaluados con CheckM2. A la izquierda se encuentran los diagramas de caja que muestran la distribución de la completitud, contaminación y tamaño de los genomas por profundidad; y a la derecha por muestra. Las líneas horizontales dentro de las cajas representan las medianas, las cajas abarcan los cuartiles 25 y 75, y las barras de error se extienden hasta los valores mínimo y máximo, excluyendo los valores atípicos. 61
24. Distribución de los *bins* con $\geq 85\%$ de completitud y como máximo 10% de contaminación. A la izquierda se muestra el número de *bins* por estación de muestreo y profundidad. Derecha, distribución total de *bins* por profundidad. Los *bins* correspondientes a la profundidad de la ZMOR están representadas en color azul claro, 1000 m en azul medio, y FONDO azul oscuro. 63
25. Clasificación taxonómica de los MAGs. A) Diagrama de pastel que muestra la distribución de los MAGs a nivel de dominio y B) a nivel de filo. C) Mapa de calor que representa el número de MAGs a nivel de género en las diferentes estaciones y profundidades. Los colores de las barras laterales del mapa de calor representan los dominios y filos a los que pertenecen los diferentes géneros, conservando la misma nomenclatura colorimétrica representada en los diagramas de pastel..... 64
26. Gráfica de barras de la abundancia relativa de los 20 órdenes de bacterias y arqueas más abundantes por estación. "Otros" indica los órdenes con menor abundancia. 66
27. Mapa de calor de la distribución de la presencia/ausencia de genes clave en 22 funciones metabólicas a través de 219 MAGs en tres profundidades diferentes (ZMOR, 1000 m y FONDO). En este se presentan 104 entradas horizontales (104 líneas) correspondientes a los genes claves que componen las 22 funciones metabólicas, organizadas en el mismo orden que en la Tabla 7. Las celdas de color naranja indican la presencia de un gen específico en un MAG dado, mientras que las celdas en blanco indican su ausencia. Los MAGs están agrupados verticalmente según su asignación taxonómica a nivel de filo y género..... 68
28. Ciclos biogeoquímicos identificados en los 219 MAGs: a) ciclo del nitrógeno, b) ciclo del carbono y c) ciclo del azufre. Cada flecha representa una transformación o paso único dentro de un ciclo. Las flechas rojas indican los pasos presentes en MAGs de la profundidad de ZMOR; las verdes corresponden a 1000 m; y azules a FONDO; y las flechas negras indican la ausencia de pasos en los MAGs. Junto a cada flecha se muestra el número de MAGs capaces de realizar esos pasos, así como la cobertura metagenómica, es decir, el porcentaje de MAGs que presentan un paso particular entre todos los MAGs de la misma profundidad..... 76
29. Electroforesis del producto de PCR de la región V4 del gen 16 ARNr de algunas de las muestras estudiadas por profundidad. Se utilizó 3 μ l de producto de PCR por pozo. La corrida se realizó

- en geles de agarosa al 1% con un voltaje de 50 V por 37 min. El tamaño del fragmento esperado es de aproximadamente 390 pb. E= escalera. 126
30. Gráfico de dispersión de los coeficientes de Gini por ASV y profundidad; la anotación muestra la proporción de puntos por encima y por debajo de 0.5. 127
31. Diagrama de burbujas de las abundancias relativas de géneros de bacterias relacionadas con la degradación de hidrocarburos con base a los resultados de *metabarcoding*. Se muestran los perfiles de las seis estaciones seleccionadas. Los géneros se indican en el eje Y, y el color de las burbujas corresponde a los órdenes a los que pertenece cada género. 140

Lista de tablas

Tabla	Página
1. Número de muestras colectadas por profundidad y campaña oceanográfica	14
2. Caracterización fisicoquímica de las muestras de agua de mar	28
3. Número de ASVs por dominio y profundidad.	29
4. Efecto de las variables ambientales sobre la estructura de la comunidad de bacterias y arqueas. La tabla muestra los resultados del ANOVA-like (valores F y p) para la comunidad completa, biosfera dominante y biosfera rara.....	39
5. Concentraciones de ADN por estación y profundidad.....	50
6. Tasas de alineamiento de lecturas a contigs para las 18 muestras analizadas.....	54
7. Lista de los genes clave para cada función metabólica, manteniendo el mismo orden que se muestra en la Figura 27. En esta se resumen las categorías metabólicas, función y gen/genes claves resultantes del análisis con METABOLIC-G (hoja de resultados <i>FunctionHit</i>).....	69
8. Muestras de agua de mar utilizadas por estación, región, campaña oceanográfica y profundidad.....	120
9. Datos ambientales de las muestras de agua de mar.	122
10. Resultados de los PERMANOVAS y comparación <i>pairwise</i> sobre el efecto de la profundidad, campaña oceanográfica y la región de muestreo en la composición de la estructura de la comunidad de bacterias y arqueas.	128
11. Análisis de abundancia diferencial de ASVs de arqueas entre profundidades. Los valores de <i>effect size</i> fueron calculados mediante ALDEx2, comparando pares de profundidades adyacentes. Todas las comparaciones mostraron diferencias significativas (prueba de Kruskal-Wallis; p-valores ajustados por corrección de Benjamini-Hochberg, FDR < 0.05). Para focalizar el análisis en las variantes más relevantes, solo se incluyen los ASVs con <i>effect size</i> > 1, indicando cambios sustanciales en su abundancia relativa entre estratos.	131
12. Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis con p-valores corregidos por Benjamini-Hochberg y <i>effect size</i> , determinados con Aldex2, a partir del análisis por pares de profundidades en rutas metabólicas predichas por PICRUSt2 de las comunidades de bacterias y arqueas. Los análisis para las comparaciones ZMOR - 800 m y 800 - 1000 m no presentaron abundancias diferenciales de ninguna ruta metabólica.	135
13. Número de lecturas por muestras generadas por secuenciación, previo al control de calidad	137
14. Géneros de bacterias relacionadas con la degradación de hidrocarburos descritos en la literatura.	138

Capítulo 1. Introducción general

"Todo elemento biológico pasa por un ciclo continuo llamado ciclo biogeoquímico donde se alterna entre materia viva (orgánica) y no viva (inorgánica)"(Bertrand et al., 2015).

Cuando un organismo muere todos sus componentes orgánicos experimentan una cadena de procesos de transformación hasta alcanzar formas inorgánicas más simples, que *a posteriori* pueden ser utilizadas como piezas moleculares para la reconstrucción de nuevas biomoléculas. Estos procesos pueden ser abióticos, tales como la disolución o fotooxidación; y bióticos a consecuencia del metabolismo de un organismo.

En esencia, todos los organismos contribuyen al ciclo biogeoquímico de los elementos principales que componen la materia orgánica, como el carbono, el oxígeno, el nitrógeno, el hidrógeno, el fósforo y el azufre. Dentro de este contexto, los microorganismos desempeñan un papel fundamental y protagónico, dado que se encuentran en gran abundancia y poseen una notable capacidad metabólica, lo que les permite catalizar la mayoría de las reacciones bioquímicas implicadas en estos ciclos. Además, destacan por su gran plasticidad genética, adaptándose a casi cualquier ecosistema. Un ejemplo de esto es que ciertos microorganismos pueden sobrevivir en ambientes extremos, como los géiseres (Sanchez-Garcia et al., 2019). De hecho, su importancia es tan significativa que se les ha atribuido la responsabilidad de crear las condiciones propicias para el desarrollo de la vida eucariota en el hábitat terrestre (Bertrand et al., 2018).

A pesar de que los microorganismos representan un gran porcentaje de la biomasa del planeta y desempeñan funciones bioquímicas cruciales para el mantenimiento de la biosfera, sólo un pequeño porcentaje (<1%) ha podido ser cultivado y estudiado (Hofer, 2018; Jiao et al., 2021). Esto se debe principalmente a que muchas de las condiciones de sus hábitats son extremas o poco conocidas (Epstein, 2013), lo que convierte el cultivo *in vitro* en un desafío complejo y costoso. Sin embargo, en las últimas décadas, las herramientas de secuenciación masiva han comenzado a superar esta limitación, permitiendo explorar la ecología de comunidades microbianas en ambientes previamente inexplorados. Más adelante, se profundizará en este tema.

1.1 Los Dominios *Bacteria* y *Archaea*

De todos los microorganismos (bacterias, arqueas, virus, protozoarios, algas, hongos), los miembros de los dominios *Bacteria* y *Archaea*, también llamados procariotas, son los que mayor biomasa, capacidad metabólica y plasticidad adaptativa poseen (Bertrand et al., 2018). A pesar de corresponder a dominios diferentes, los miembros de ambos grupos comparten importantes características fisiológicas, son unicelulares con tamaños de células inferiores a los 5 μm , poseen un único cromosoma circular muchas veces acompañado de ADN extracromosomal en forma de plásmidos y/o megaplásmidos, la división celular ocurre por fisión binaria, presentan reproducción asexual y no suelen tener organelos celulares definidos por membrana (Bertrand et al., 2018). Aunque el caso del núcleo es actualmente tema de debate debido a que algunos miembros del dominio *Bacteria* poseen una estructura análoga al núcleo eucariota llamada nucleoide (Thanbichler et al., 2005).

Por su aparente similitud fisiológica las bacterias y arqueas estuvieron clasificadas en un mismo grupo hasta 1977, cuando la evidencia molecular por medio del gen 16S del ARN ribosomal (ARNr) dividió el mundo viviente en tres dominios *Bacteria*, *Archaea* y *Eucarya* (Woese y Fox, 1977). De hecho, actualmente, y gracias al gran número de datos obtenidos por medio de las técnicas de secuenciación masiva, el árbol de la vida se ha reestructurado y se discute acerca de una cuarta rama compuesta por microorganismos llamados *candidate phyla radiation* (CPR, por sus siglas en inglés) relacionados de forma cercana con el dominio *Bacteria* (Castelle y Banfield, 2018).

Además de la evidencia molecular existen diferencias fisiológicas que soportan la dicotomía entre ambos dominios. Las bacterias poseen una membrana celular compuesta por ácidos grasos unidos a una molécula de 1,2-dioctanoil-sn-glicerol a través de un enlace tipo éster, mientras que en arqueas las membranas están compuestas de cadenas de isoprenoides de alquilo unidos por medio de un enlace tipo éter a 2,3-dioctanoil-sn-glicerol (Grossi et al., 2015); la pared celular de las bacterias se compone principalmente por peptidoglicano, mientras que en las arqueas es de pseudopeptidoglicano (Claus, 2010; White et al., 2007); algunas arqueas pueden llegar a presentar intrones mientras que en bacterias aún no hay evidencias de ellos (Tocchini-Valentini et al., 2011) y existen algunos metabolismos limitados a solo un grupo, como es el caso de la metanogénesis exclusivo de las arqueas (Kietäväinen y Purkamo, 2015).

1.2 Estudios de bacterias y arqueas en ecosistemas marinos

Las principales técnicas para estudiar microorganismos se han basado tradicionalmente en su cultivo en laboratorio (Rodrigues & De Carvalho, 2022), microscopía, análisis bioquímicos (como la medición de actividades enzimáticas), técnicas de hibridación fluorescente *in situ* (FISH) para identificar grupos taxonómicos específicos, o enfoques basados en PCR como la electroforesis en gel con gradiente desnaturante y bibliotecas de clones de genes ribosomales (Amann et al., 1995). Estas metodologías, aunque útiles, ofrecen una resolución taxonómica y funcional limitada, ya que solo capturan fracciones de la diversidad microbiana o requieren conocimiento previo de los organismos objetivo. No fue sino hasta la llegada de las técnicas de secuenciación masiva que se logró acceder a la diversidad microbiana de forma integral, secuenciando directamente el ADN de muestras ambientales. Este enfoque, conocido como metagenómica (Nam et al., 2023), implica extraer el material genético de la muestra, secuenciarlo y analizar las secuencias obtenidas para inferir tanto la estructura como el potencial funcional de la comunidad microbiana.

La forma de abordar el estudio de la comunidad microbiana mediante estas tecnologías consiste básicamente en dos aproximaciones, la metagenómica dirigida (también conocida como *metabarcoding* o secuenciación de amplicones) y la metagenómica de genomas completos o *shotgun*. En el caso de las bacterias y arqueas el *metabarcoding* (en particular basada en el gen 16S del ARNr) es un procedimiento estándar en estudios de estructura de comunidades (Logares et al., 2014). Mientras que la metagenómica *shotgun* se utiliza principalmente para el análisis del potencial funcional de una comunidad, o lo que es lo mismo, el potencial metabólico (p. ej., Acinas et al., 2021).

A la fecha han existido diversas iniciativas con el propósito de estudiar los metagenomas de bacterias y arqueas marinas a escala global, entre ellos destacan el Ocean Drilling Program (ODP), Global Ocean Sampling del Instituto J.Craig Venter (Parthasarathy et al., 2007), Tara Oceans Expedition (Hingamp et al., 2013) y la expedición de aguas profundas Malaspina (Acinas et al., 2021; Herndl et al., 2023). A escala más local, específicamente en el golfo de México (GdM), la mayoría de las investigaciones han sido realizadas a partir de muestras procedentes de la Zona Económica Exclusiva estadounidense (ZEEE), p. ej. estudios estacionales de la estructura y dinámica de las comunidades de bacterias y arqueas (Easson & Lopez, 2018; King et al., 2013; Tolar et al., 2013), descripción de los cambios en la estructura y potencial metabólico de bacterias y arqueas en las *Dead Zones* (DZ, por sus siglas en inglés) (Bristow et al., 2015; Campbell et al., 2019), o cambios en la estructura antes, durante y después de derrames de petróleo, en particular de la

plataforma petrolífera *Deepwater Horizon* (Joye et al., 2014a; Redmond y Valentine, 2012; Rivers et al., 2013); por nombrar algunos. Mientras que en la ZEEM el número de trabajos respecto a microorganismos es limitado, en aguas epipelágicas (Linacre et al., 2019; Medina-Gómez et al., 2019), en sedimentos (Godoy-Lozano et al., 2018; Raggi et al., 2020), en experimentos de mesocosmos (Valencia-Agami et al., 2019), y a nivel mesopelágico y batipelágico (Guerrero et al., 2022; Raggi et al., 2020).

Es de resaltar que todas las publicaciones mencionadas con muestras de la ZEEM son parte de los proyectos del Consorcio de Investigación del Golfo de México (CIGoM), al igual que el presente trabajo. CIGoM se creó como consorcio en el año 2015 con el propósito de desarrollar proyectos relacionados con el posible impacto ambiental de la industria del gas y el petróleo en el GdM. Entre sus líneas de investigación se encuentra el estudio de la diversidad de organismos que allí habitan para así aportar el conocimiento básico para entender y actuar en caso de posibles derrames de hidrocarburos. Con este fin, CIGoM ha realizado varios cruceros anuales que nos han proporcionado muestras e información de gran valor para caracterizar y entender mejor las aguas mexicanas del golfo.

1.3 El golfo de México

El GdM es una cuenca oceánica que limita con litorales de México, Estados Unidos y Cuba, se comunica por el sureste con el mar Caribe a través del canal de Yucatán (profundidad del canal \approx 2000 m) y por el noreste con el océano Atlántico a través del estrecho de Florida (profundidad \approx 800 m) y está compuesto por plataformas continentales alrededor de un abismo profundo llamado *Sigsbee Deep* de aproximadamente 4000 m de profundidad (Herzka et al., 2021).

El agua del GdM se compone de diferentes masas de agua a distintas profundidades y que se forman por diversos mecanismos en distintas partes del mundo (Dickson y Brown, 1994; Qu et al., 2013; Stramma y England, 1999; D. Zhang et al., 2003) (Figura 1), las cuales entran al golfo impulsadas por la corriente de Yucatán y a través del canal de Yucatán. Una vez dentro, dicha corriente se transforma en la corriente de Lazo (CL) que gira en sentido horario e impulsa la salida de las masas de agua por encima de los 800 m a través del estrecho de Florida. Esto último ocasiona que las aguas por debajo de los 800 m solo puedan salir por el estrecho de Yucatán hacia el mar caribe en sentido contracorriente (Candela et al., 2019).

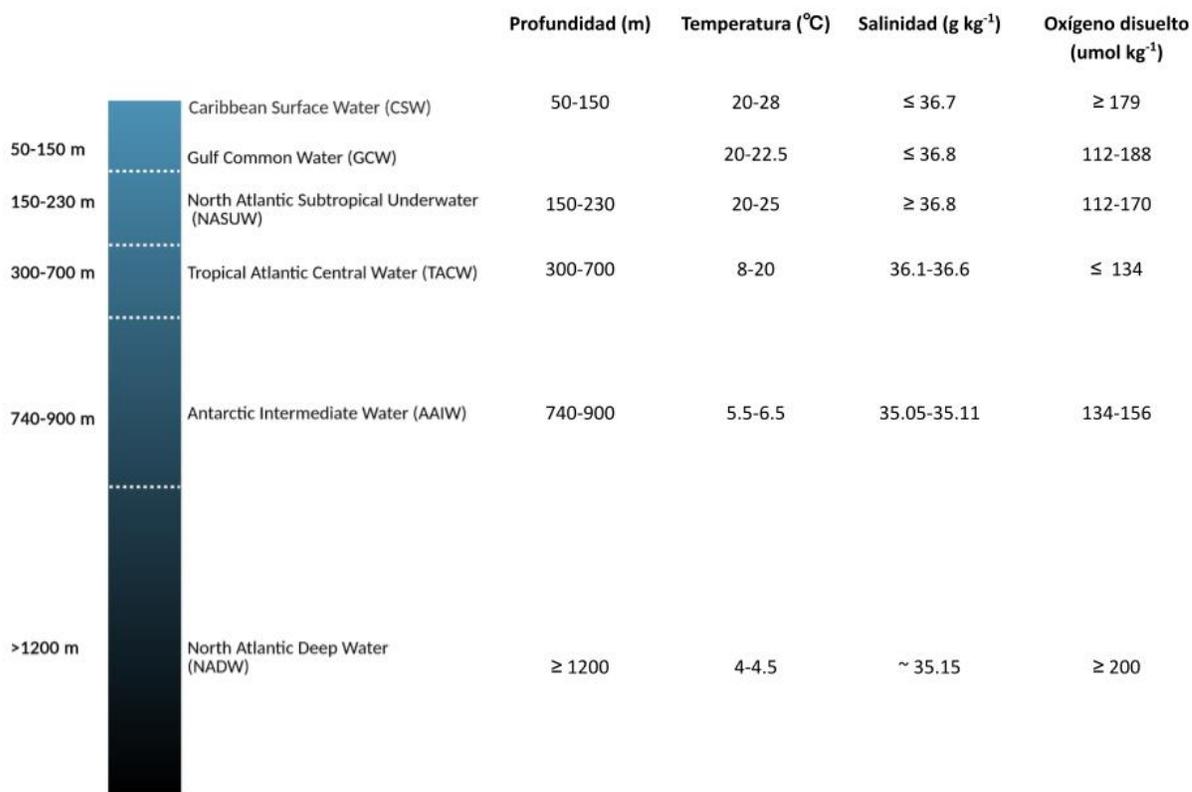


Figura 1. Masas de agua en el golfo de México según lo reportado por Portela et al. (2018)

En el océano la columna de agua se divide convencionalmente en tres zonas según su profundidad, zona epipelágica que va de los 0-200 m de profundidad, y se caracteriza por estar iluminada y poseer alta actividad fotosintética; en el GdM esta zona alberga las masas de agua *Caribbean Surface Water* (CSW), *Gulf Common Water* (GCW) y *North Atlantic Subtropical Underwater* (NASUW) (Figura 1). La zona mesopelágica, también conocida como zona crepuscular, se extiende desde 200 a 1000 m de profundidad (Reygondeau et al., 2018), y en golfo esta compuesta por las masas *Tropical Atlantic Central Water* (TACW), donde generalmente se encuentra la Zona de Mínimo de Oxígeno Relativo (ZMOR) y la *Antarctic Intermediate Water* (AAIW). Y por último la zona batipelágica, que se extiende desde los 1000 a 4000 m de profundidad, en el GdM se compone principalmente de la masa *North Atlantic Deep Water* (NADW).

Asimismo, en el GdM cada una de estas tres zonas representa un sistema complejo y dinámico, cuya variabilidad depende de distintos procesos espacio-temporales. En la zona epipelágica predominan los procesos de estacionalidad del balance de agua dulce (descarga de ríos y el equilibrio entre la tasa de evaporación y precipitación), el flujo de calor (latente, sensible y advectivo) y el estrés por viento. En esta misma línea, tanto el epipelágico como el mesopelágico son afectados por procesos derivados de la CL, en particular por la presencia de remolinos anticiclónicos de núcleo caliente que giran en el sentido de las

agujas del reloj (Portela et al., 2018). Estos anticiclones se desprenden de la CL y viajan hacia el oeste, siguiendo diferentes rutas, la central (entre 24°N y 26°N de latitud) es la más común, mientras que la sureña es la menos frecuente. Al colisionar los remolinos contra la plataforma occidental, modifican constantemente el agua debido a la inyección de aguas oligotróficas y cálidas de origen caribeño (Hamilton y Lugo-Fernandez, 2001; Muller-Karger et al., 2015). Adicionalmente, en el GdM hay presencia de giros ciclónicos que giran en sentido antihorario, los cuales bombean agua subsuperficial hacia la superficie. Un ejemplo destacado es el ciclón semipermanente conocido como ciclón de Campeche (centro: 95°W, 19.5°N) (Pérez-Brunius et al., 2013). Caso contrario, las aguas más profundas (por debajo de 1000 m) tienen poca ventilación con un tiempo de residencia de \approx 100 años (Amon et al., 2023), y pueden ser afectadas ocasionalmente por eventos como filtraciones naturales de hidrocarburos "chapopoteras", la presencia lagos de salmuera y actividad hidrotermal (Fisher et al., 2007; MacDonald et al., 1990, 2015).

En resumen, el conocimiento sobre las comunidades de bacterias y arqueas en la ZEEM del GdM es aún limitado, centrándose principalmente en ambientes costeros y epipelágicos. Este enfoque ha dejado un gran vacío en la comprensión de la zona mesopelágica, zona importante donde se remineraliza hasta el 90% del carbono orgánico exportado desde la zona epipelágica (Cavan et al., 2019; Robinson et al., 2010), siendo esencial para los ciclos biogeoquímicos marinos y la bomba biológica de carbono. Y la zona batipelágica, que alberga condiciones únicas, como filtraciones naturales de hidrocarburos en el fondo marino, las cuales podrían favorecer comunidades microbianas especializadas en la degradación de compuestos hidrocarbonados. A diferencia de la ZEEE, donde se han caracterizado extensamente las respuestas microbianas a perturbaciones como el derrame de *Deepwater Horizon*, en aguas mexicanas persiste una brecha en el conocimiento sobre la estructura, función y adaptaciones metabólicas de estas comunidades ante cambios ambientales. Este estudio, enmarcado en los esfuerzos del CIGoM, utiliza enfoques metagenómicos (*metabarcoding* y *shotgun*) para explorar la estratificación vertical de bacterias y arqueas en aguas profundas, identificando factores ambientales clave y evaluando su potencial metabólico. Los resultados no solo aportan una línea de base para monitorear impactos futuros, sino que podrían revelar nuevos genes y consorcios microbianos con aplicaciones en biorremediación y bioprospección, posicionando al GdM como un laboratorio natural para entender la adaptación microbiana en ambientes oligotróficos sujetos a presiones naturales únicas, como los existentes en el golfo.

1.4 Justificación

Los ciclos biogeoquímicos marinos dependen de comunidades microbianas que transforman materia orgánica y reciclan nutrientes en ambientes profundos, procesos esenciales para las redes tróficas y el clima global. Sin embargo, en el GdM, región clave por su dinámica oceanográfica única (con influencia de la CL y fenómenos como las filtraciones naturales de hidrocarburos), el conocimiento sobre la diversidad y función de bacterias y arqueas en las zonas mesopelágica y batipelágica de ZEEM es limitado, ya que la mayoría de estudios previos se han realizado en la ZEEE. Este estudio pretende arrojar algo de luz sobre esos vacíos del conocimiento mediante enfoques metagenómicos (*metabarcoding* del gen 16S ARNr y secuenciación *shotgun*), combinados con parámetros ambientales, para caracterizar la diversidad taxonómica, identificar posibles factores estructurantes y finalmente reconstruir genomas microbianos (MAGs) que revelen su potencial metabólico. Los resultados aportarán una línea base útil ante escenarios, p. ej. el impacto de eventos antropogénicos en el golfo, como derrames de petróleo, vertidos de nutrientes, cambio climático o la proliferación de microplásticos, o para la bioprospección de genes con aplicaciones en biorremediación, un aspecto esencial en un contexto donde se busque que la industria energética coexista con un patrimonio biológico.

1.5 Subtema 1: Caracterización de la estructura de las comunidades de bacterias y arqueas en el golfo de México, mediante metabarcoding

El Golfo de México (GdM) se caracteriza por una dinámica oceanográfica compleja, con intercambio de nutrientes y organismos entre el mar Caribe y el océano Atlántico, procesos como giros ciclónicos y la Corriente de Lazo (CL), y una estratificación vertical marcada en masas de agua con propiedades físico-químicas contrastantes. Estas condiciones lo convierten en un escenario biogeoquímico único para estudiar la ecología microbiana marina.

La zona epipelágica constituye un ecosistema oligotrófico caracterizado por una baja producción primaria neta (PPN). Sin embargo, durante el verano, se han observado discrepancias entre la materia orgánica particulada (MOP) generada en la zona iluminada y su exportación a la mesopelágica, con patrones similares a ecosistemas más productivos (Stukel et al., 2021). Por su parte, la zona mesopelágica se constituye principalmente por dos masas de agua (Figura 1) y un fuerte gradiente de oxígeno disuelto, la *Antarctic Intermediate Water* (AAIW), y la *Tropical Atlantic Central Water* (TACW), donde se encuentra la

Zona de Mínimo de Oxígeno Relativo (ZMOR), y donde hasta el 90% del carbono orgánico se transforma en CO₂ (Cavan et al., 2019; Robinson et al., 2010). Más abajo, en la batipelágica, donde domina la *North Atlantic Deep Water* (NADW), coexisten condiciones extremas (4°C, >1000 m de profundidad) con filtraciones de hidrocarburos y actividad hidrotermal (Fisher et al., 2007; MacDonald et al., 2015), ofreciendo un entorno ideal para estudiar adaptaciones microbianas a microhábitats y ambientes extremos.

Estudios mediante *metabarcoding* del picoplancton en el océano global han reportado que bacterias y arqueas muestran patrones de distribución vertical vinculados a propiedades de las masas de agua, como profundidad, gradientes de oxígeno y temperatura (Agogué et al., 2011; Gómez-Letona et al., 2022; Jing et al., 2013; Mena et al., 2021; Salazar et al., 2016; Sebastián et al., 2024; Shao et al., 2022). Factores como la limitada movilidad celular, la densidad del agua como barrera física y los gradientes de nutrientes explican esta estratificación (Agogué et al., 2011; Baltar et al., 2009; Mullane et al., 2023).

En la ZEEE, en particular en áreas cercanas a la desembocadura del río Mississippi, a la CL y la región afectada por el derrame de la *Deepwater Horizon*, algunos estudios han empleado *metabarcoding* secuenciando el marcador genético 16S ARNr para caracterizar las comunidades de bacterias y arqueas en la columna de agua. Estos trabajos reportaron una estratificación vertical de las comunidades e identificaron variables ambientales como salinidad, pH y oxígeno disuelto como factores estructurantes. Además, identificaron al filo Thaumarchaeota (dominio: *Archaea*) como un grupo dominante en zonas profundas, en un escenario de anoxia en profundidades superficiales debido a las *Dead Zone* que se forman en las temporadas de primavera-verano cerca de la desembocadura. Todos estos análisis se basaron en muestras colectadas cerca de la plataforma continental, con una profundidad máxima de 1700 m (Easson & Lopez, 2018; King et al., 2013; Tolar et al., 2013).

En cambio, en la ZEEM todavía no existen estudios que combinen variables ambientales con análisis de *metabarcoding* para bacterias y arqueas en aguas del mesopélagico y batipelágico. Aunque trabajos pioneros, como los de Raggi et al. (2020) y Guerrero et al. (2022), han explorado cómo la comunidad bacteriana cambia con la profundidad, identificando grupos como Proteobacteria (Gammaproteobacteria y Alphaproteobacteria) y géneros hidrocarbonoclasticos como *Alteromonas* y *Oleibacter* en zonas mesopelágica y batipelágicas, las arqueas siguen estando ausentes en estos análisis. Hasta ahora, el único estudio que aborda cambios de las comunidades tanto de bacterias y arqueas vinculados a factores ambientales en esta parte del GdM es el de Valencia-Agami et al. (2024), realizado en la plataforma de Yucatán a profundidades máximas de 180 m. Este trabajo reveló que la estructura de las comunidades

estaba moldeada por la profundidad, el oxígeno disuelto y la clorofila-a, y aunque los niveles de hidrocarburos eran bajos, detectaron géneros con potencial para degradarlos. Sin embargo, estas conclusiones se limitan a aguas someras, enfatizando nuevamente el vacío en la comprensión de las zonas profundas (>1000 m) de la ZEEM, especialmente en cuanto a las arqueas se refiere, y describiendo de manera detallada las comunidades en el batipelágico.

Este estudio contribuye a ampliar el conocimiento sobre las comunidades microbianas en las zonas mesopelágica y batipelágica de la ZEEM del GdM, un área única debido a la influencia de la CL, giros ciclónicos, estratificación vertical y presencia de filtraciones naturales de hidrocarburos. En comparación con trabajos previos, se incrementó el número de estaciones muestreadas y se contextualizaron los datos microbianos con variables ambientales (p. ej., profundidad y oxígeno disuelto), lo que permitió explorar su distribución espacial, dinámicas temporales y roles ecológicos. Además, se presenta la primera descripción integral de la comunidad de arqueas en aguas profundas de la ZEEM del GdM, un grupo no reportado previamente en esta región (Guerrero et al., 2022; Raggi et al., 2020) Estos hallazgos no solo enriquecen la línea base para evaluar impactos antropogénicos (como derrames o efectos del cambio climático), sino que podrían revelar consorcios microbianos con potencial aplicado en biorremediación.

El objetivo de esta sección es caracterizar la estructura, diversidad y factores ambientales que influyen en la estratificación vertical de las comunidades de bacterias y arqueas en las zonas mesopelágica (200–1000 m) y batipelágica (1000–4000 m) de la ZEEM del GdM, mediante *metabarcoding* del gen 16S ARNr, para identificar patrones espaciales, evaluar su asociación con gradientes ambientales y explorar su posible vinculación con microhábitats profundos.

Para ello se tienen los siguientes objetivos específicos:

- Caracterizar la diversidad taxonómica de bacterias y arqueas en las zonas mesopelágica y batipelágica en la ZEEM del GdM, analizando y comparando patrones verticales (200–4000 m) y horizontales (a lo largo de la región de aguas profundas).
- Identificar los factores ambientales clave (como oxígeno, nutrientes, temperatura, entre otros) que podrían estar estructurando las comunidades en la columna de agua.
- Evaluar el papel ecológico de las bacterias y arqueas en las zonas estudiadas.

- Identificar la posible asociación entre los grupos de bacterias y arqueas encontrados en la región batipelágica con microhábitats profundos como filtraciones de hidrocarburos, hidratos de gas, o materia orgánica particulada.

1.6 Subtema 2: Caracterización del potencial funcional de las bacterias y arqueas del golfo de México a través de genomas ensamblados a partir de metagenomas (MAGs)

Los microorganismos de las zonas mesopelágicas y batipelágicas del océano desempeñan roles importantes en los ciclos biogeoquímicos globales, transformando materia orgánica y reciclando nutrientes en ambientes caracterizados por bajas temperaturas, alta presión y limitación de recursos. Aunque durante mucho tiempo se creyó que la actividad microbiana en estas regiones era escasa, estudios recientes han demostrado que estos microorganismos están metabólicamente activos e incluyen comunidades altamente diversas de bacterias y arqueas adaptadas a condiciones extremas, con funciones que van desde la nitrificación y la fijación de carbono inorgánico hasta la oxidación de compuestos sulfurados ([Acinas et al., 2021](#); [Herndl et al., 2023](#)). Estas funciones no solo contribuyen a mantener el equilibrio ecológico en las profundidades del océano, sino que también influyen en los procesos que regulan el clima global ([Cavicchioli et al., 2019](#)), evidenciando lo importante de comprender en mayor profundidad esta vasta y aún en gran medida desconocida parte de la biosfera.

Por su parte, en el golfo de México (GdM), estas zonas albergan dinámicas oceanográficas únicas, como la influencia de la Corriente de Lazo (LC) ([Stukel et al., 2021](#)), la presencia de filtraciones naturales de hidrocarburos ("chapopoterías") y actividad hidrotermal, las cuales podrían moldear las comunidades microbianas ([Dubinsky et al., 2013](#); [Fisher et al., 2007](#); [Kleindienst et al., 2016](#)). Sin embargo, a pesar de su relevancia ecológica, el conocimiento sobre la diversidad y el potencial metabólico de este grupo de microorganismos en aguas profundas del GdM sigue siendo limitado.

En el Subtema 1, mediante *metabarcoding* del gen 16S ARNr, se identificó una estratificación vertical de bacterias y arqueas vinculada a gradientes fisicoquímicos, con predominio de grupos como Nitrosopumilales (Thaumarchaeota) en la zona mesopelágica y *Alteromonadales* (Gammaproteobacteria) en la batipelágica. No obstante, esta aproximación taxonómica, que aporta valiosa información sobre la diversidad microbiana, no permite inferir de forma confiable las capacidades metabólicas ni los roles

ecológicos de estos organismos. Para superar esta limitación, la metagenómica por *shotgun*, junto con la reconstrucción de genomas microbianos a partir de metagenomas (MAGs, por sus siglas en inglés) emergen como herramientas útiles, ya que permiten vincular taxonomía con potencial funcional, explorar rutas biogeoquímicas y caracterizar microorganismos no cultivados ([Acinas et al., 2021](#); [Dong et al., 2019](#); [Kerou et al., 2021](#); [Liu et al., 2019](#); [Peeb et al., 2022](#); [Sanchez-Garcia et al., 2019](#)).

Desde sus primeras aplicaciones ([Tyson et al., 2004](#)), los MAGs han revolucionado el estudio de microbiomas ambientales al superar las limitaciones del cultivo *in vitro* y los marcadores únicos como el 16S ARNr. Sus ventajas incluyen: i) mayor precisión taxonómica mediante integración de señales genómicas (composición nucleotídica, cobertura, entre otros); ii) detección de linajes microbianos novedosos; iii) acceso a la organización genómica (operones, islas metabólicas, entre otros) para inferir rutas biogeoquímicas completas; y iv) reducción de anotaciones espurias al trabajar con genomas reconstruidos en lugar de lecturas sueltas ([Parks et al., 2017](#)). En este capítulo, empleamos esta aproximación para explorar el potencial metabólico de comunidades microbianas en el GdM profundo, conectando su diversidad genómica con procesos biogeoquímicos.

Al igual que en los estudios de *metabarcoding*, los reportes sobre MAGs de bacterias y arqueas en el GdM provienen principalmente de la Zona Económica Exclusiva Estadounidense (ZEEE). Estos se centran en sedimentos asociados a filtraciones de hidrocarburos ([Zhao et al., 2020](#)), o a zonas hipóxicas ("Dead Zones; [Thrash et al., 2017](#)). Entre los hallazgos destacan MAGs de arqueas metanotróficas marinas (ANME, por sus siglas en inglés), vinculadas a la oxidación anaeróbica de metano acoplada a la reducción de sulfato ([Zhao et al., 2020](#)), así como MAGs de Deltaproteobacterias reductoras de sulfato, implicadas en sulfidización y degradación de compuestos orgánicos recalcitrantes. También se han identificado MAGs de Thaumarchaeota (arqueas) con capacidad para metabolizar urea y cianato en la producción de nitrito ([Kitzinger et al., 2019](#)). Sin embargo, hasta donde sabemos, no existen reportes de MAGs derivados de las zonas mesopelágica y batipelágica de la columna de agua en el GdM.

Este vacío de conocimiento también se extiende a la ZEEM. El estudio más cercano es el de [Raggi et al. \(2020\)](#), que empleó secuenciación *shotgun*, ensamblaje de secuencias y comparación con bases de datos. Sus resultados indican que los sedimentos profundos albergan comunidades con potencial para procesos anaerobios (sulfidización, reducción de nitrato), mientras que en la columna de agua predominan bacterias con capacidad para biodegradar hidrocarburos y realizar fotosíntesis.

Este capítulo contribuye a entender el potencial funcional de las bacterias y arqueas del mesopelágico y batipelágico de la región de aguas profundas de la ZEEM del golfo, buscando nuevos linajes microbianos que mejoren nuestra comprensión de los mecanismos de adaptación a la profundidad o perturbaciones naturales o antropogénicas, como derrames de hidrocarburos, en un ecosistema marino importante para el país. Planteamos que las comunidades microbianas del mesopelágico y batipelágico albergan un repertorio metabólico especializado, dominado por heterótrofos adaptados a la degradación de materia orgánica recalcitrante y mixótrofos capaces de aprovechar múltiples fuentes de energía en condiciones oligotróficas. La reconstrucción de MAGs permitirá resolver linajes microbianos no cultivados, como se ha demostrado en estudios previos ([Mirete et al., 2025](#)).

Los objetivos de esta sección son los siguientes:

- Reconstruir genomas de bacterias y arqueas de alta calidad mediante MAGs procedentes de las zonas mesopelágica y batipelágica del GdM.
- Determinar el potencial funcional de los MAGs caracterizados.
- Evaluar el papel de los MAGs en los ciclos biogeoquímicos (nitrógeno, carbono, azufre) y su capacidad para degradar hidrocarburos, vinculando taxonomía y genes potencialmente funcionales a las condiciones ambientales del GdM.

Capítulo 2. Metodología

2.1 Subtema 1: Del análisis de las comunidades mediante amplificación de la región V4 del gen 16S del ARNr (*metabarcoding*)

2.1.1 Sección experimental

2.1.1.1 Muestreo y caracterización fisicoquímica

Las muestras de agua de mar para esta tesis se colectaron en las zonas mesopelágica y batipelágica de 35 estaciones dentro de la región de aguas profundas de la ZEEM del GdM. El muestreo se realizó durante las épocas más cálidas del año a bordo del buque R/V Justo Sierra (de la Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM) durante tres campañas oceanográficas XIXIMI: XIXIMI-05 (10-25 junio 2016; número de estaciones muestreadas=12), XIXIMI-06 (5 agosto-8 septiembre 2017; n=13) y XIXIMI-07 (9 mayo-2 junio 2019; n=10) (Figura 2). Las estaciones se clasificaron como somera o profunda según la profundidad máxima de muestreo, tomando como referencia la isopicna de 1000 m. Las estaciones someras alcanzaron hasta los 1000 m, mientras que las profundas cerca del lecho marino. En cada estación, las muestras se tomaron en tres profundidades. Estaciones someras: i) Zona de Mínimo Oxígeno Relativo (ZMOR, 350-600 m), ii) 800 m, y iii) 1000 m, y estaciones profundas: i) ZMOR, ii) 1000 m, iii) y fondo marino (FONDO, 1100-3700 m; \approx 30 m por arriba del lecho marino). En total, se analizaron 95 muestras, siendo que en algunas estaciones no se tuvieron las tres profundidades, en la Tabla 1 se resume la distribución de cuántas muestras se colectaron por profundidad y campaña oceanográfica. Para más detalles de las estaciones ver **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**

Las muestras se colectaron con botellas Niskin de 20 L integradas en un sistema tipo roseta. En cada estación y profundidad, se tomaron 6 L de agua, los cuales fueron pre-filtrados con una malla Nitex de 200 μm . Posteriormente, el agua se dividió en dos fracciones de 3 L, que se filtraron mediante un sistema de vacío conectado a una bomba Eyela A-1000-S, usando membranas de policarbonato de 0.8 μm (Whatman® Nuclepore™) seguidas por filtros Sterivex™ de 0.2 μm (Merck Millipore). Los filtros se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido a bordo y se almacenaron a -80 °C hasta la extracción de ADN en las

instalaciones del CICESE. Para este estudio, solo se analizó la fracción correspondiente a $0.2-0.8 \mu\text{m}$ (que corresponde a la de procariotas de vida libre).

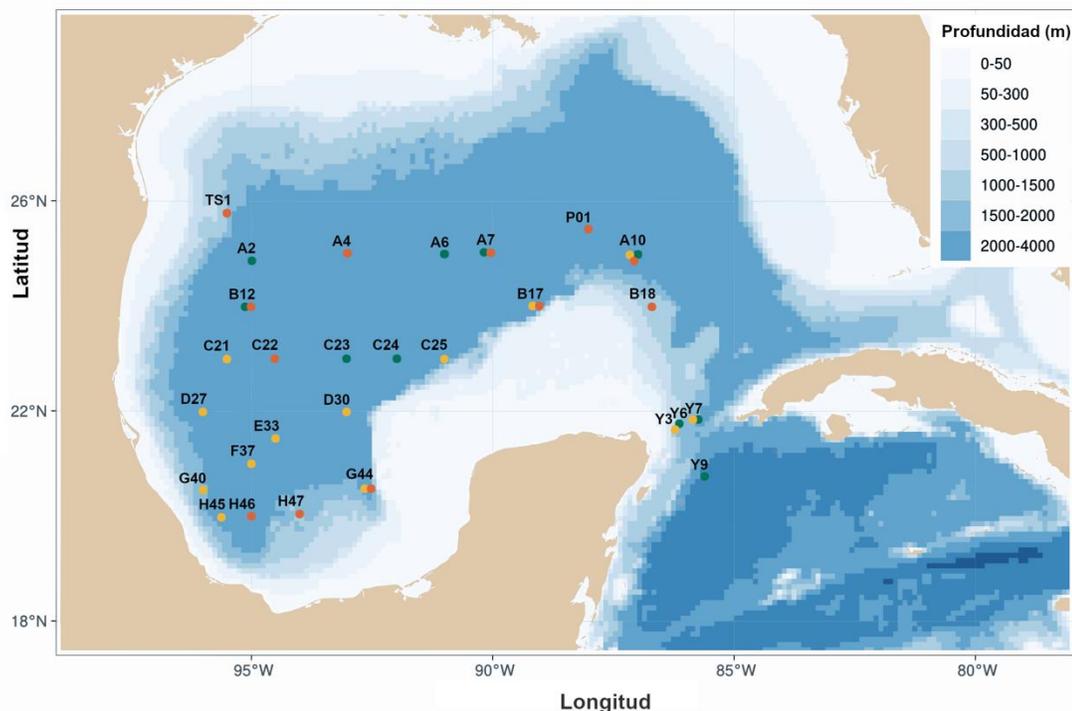


Figura 2. Ubicación geográfica de las estaciones de colecta de agua de mar dentro de la región de aguas profundas de la zona económica exclusiva mexicana. Los colores representan las campañas oceanográficas: XIXIMI-05 (naranja), XIXIMI-06 (amarillo) y XIXIMI-07 (verde).

Tabla 1. Número de muestras colectadas por profundidad y campaña oceanográfica

		ZMOR	800 m	1000 m	FONDO
CRUCERO OCEANOGRÁFICO	XIXIMI-05	12	6	12	6
	XIXIMI-06	12	6	10	6
	XIXIMI-07	8	3	10	4

Durante el muestreo, se registraron parámetros fisicoquímicos (profundidad, temperatura, salinidad, oxígeno disuelto) con una CTD SBE 911 plus (Sea-Bird Scientific). Las concentraciones de nitrógeno ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) y fosfato (PO_4^{3-}) se determinaron según Linacre et al. (2019). De acuerdo con las recomendaciones dadas en McDougall & Barker. (2011), se utilizaron *the International Thermodynamic Equation of Seawater – 2010* (TEOS-10) para convertir salinidad práctica y temperatura en salinidad absoluta (SA) y temperatura conservativa (Θ), variables termodinámicamente consistentes y esenciales para estudios en aguas

profundas. Estas conversiones se realizaron en el ambiente R v4.0.0 con el paquete gsw v1.2-0 (Kelley et al., 2024). El consumo aparente de oxígeno (CAO) se calculó mediante:

$$CAO = [O_2 \text{ Saturado}] - [O_2 \text{ In situ}] \quad (1)$$

La concentración de oxígeno saturado se determinó para cada estación y profundidad siguiendo la ecuación de (Garcia & Gordon, 1992).

2.1.1.2 Extracción del ADN, preparación de librerías y secuenciación

El ADN total se extrajo a partir de los dos filtros Sterivex™ recolectados por muestra. Para ello, se empleó el método de fenol-cloroformo, el cual favorece la obtención de ADN con alto peso molecular (Wright et al., 2009). Posteriormente, se cuantificó la concentración de ADN mediante un espectrofotómetro NanoDrop Lite (Thermo Scientific®) y se evaluó su integridad mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.8%. Finalmente, las extracciones correspondientes a cada muestra se combinaron y utilizaron para la amplificación por PCR.

Las bibliotecas de amplicones se prepararon mediante un único paso de PCR, utilizando la estrategia de doble indexado descrita por (Kozich et al., 2013). Durante el proceso se amplificó la región hipervariable V4 del gen ARNr 16S utilizando los cebadores 515F y 806R, diseñados para la identificación de bacterias y arqueas (Caporaso et al., 2011). Cada par de cebadores incluyó, además del marcador taxonómico, un *linker* de unión, un oligonucleótido de secuenciación (*PAD*), un índice único de 8 pares de bases (pb) por muestra y el adaptador Illumina (Kozich et al., 2013).

Cada muestra se amplificó por triplicado en reacciones de 20 μ L, las cuales contenían 10 ng del ADN, 400 nM de cada cebador, 0.1 U de la polimerasa MyTaq™ (Bioline®) y tampón de reacción MyTaq™ 5 \times . El perfil térmico de amplificación consistió en una desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos, seguida de 32 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 20 segundos, alineamiento a 55 °C por 15 segundos y extensión a 72 °C por 5 minutos, con una extensión final a 72 °C durante 7 minutos. Para garantizar la calidad de los productos de PCR, se incluyeron controles positivo (ADN previamente validado), negativo (sin ADN, secuenciado para descartar contaminación) y una comunidad sintética *Mock Community* (ZymoBIOMICS®) para evaluar el rendimiento de la secuenciación.

Previo a la secuenciación, los productos de amplificación de las tres réplicas por muestra se agruparon (*pool*), y se sometieron a un protocolo de purificación y normalización mediante el *kit SequalPrep™ Normalization Plate* (Invitrogen®) para homogeneizar las bibliotecas. La integridad de los amplicones se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, y la concentración de ADN se cuantificó usando un fluorómetro Qubit 3.0 con el kit dsADN HS.

La secuenciación se realizó en la plataforma Illumina MiSeq del CICESE, utilizando el *kit Standard v2* (2×150 PE) y una *flow-cell* Reagent Micro Kit v2. Para abarcar todas las muestras, se ejecutaron tres eventos de secuenciación, primer evento, una réplica de las estaciones de la ZMOR, segundo evento, las dos réplicas restantes de ZMOR, junto con las tres réplicas de las estaciones a 1000 m y FONDO, y en el último evento las tres réplicas de las estaciones de 800 m.

Las secuencias crudas están disponibles en el SRA/NCBI bajo el BioProject PRJNA1141103.

2.1.2 *Análisis bioinformáticos*

2.1.2.1 *Procesamiento de las lecturas de secuenciación*

El primer paso de control de calidad consistió en el *demultiplexado* dentro de la plataforma de secuenciación. Este proceso asignó las secuencias a sus estaciones correspondientes y eliminó aquellos fragmentos no pertenecientes a la región V4 del gen 16S ARNr, incluyendo elementos técnicos como adaptadores, índices, secuencias PAD, *linkers* y cebadores. Posteriormente, las secuencias *demultiplexed* se evaluaron con el programa FastQC v0.12 (Andrews et al., 2015).

A partir de esta etapa, los análisis bioinformáticos se realizaron en *el entorno R v4.2* (R Core Team, 2023), salvo que se indique lo contrario. Para el procesamiento de las lecturas y la obtención de *Amplicon Sequence Variants* (ASVs), se implementó el paquete *DADA2 v1.16* (Callahan et al., 2016), diseñado para inferir secuencias biológicas mediante modelos de error estadístico aplicables a amplicones secuenciados en plataformas *Illumina*. Para la ejecución se utilizó el flujo de trabajo *DADA2 v1.8* (disponible en https://benjjneb.github.io/dada2/tutorial_1_8.html), conservando los parámetros predeterminados excepto en el recorte de lecturas, cuyas longitudes se fijaron en 149 pb para las lecturas *forward* y 140 pb para las *reverse*.

Para la asignación taxonómica de los ASVs se empleó la base de datos preformateada SILVA v.138 (Quast et al., 2013) mediante la implementación básica del clasificador bayesiano. Posteriormente, se construyó un árbol filogenético enraizado utilizando el método ClustalW para el alineamiento y *neighbor-joining* para la agrupación, con los paquetes msa v.1.22 (Bonatesta et al., 2015), phangorn v.2.6.2 (Schliep, 2011) y ape v.5.4-1 (Paradis & Schliep, 2019). Los datos taxonómicos, secuencias representativas, frecuencias, relaciones filogenéticas y una matriz de metadatos se integraron en un objeto phyloseq (paquete v1.32; McMurdie y Holmes, 2013) para su síntesis, organización taxonómica y agrupamiento. Los metadatos incluyen variables ambientales o categóricas (p. ej., temperatura y profundidad) asociadas a cada muestra, lo que permitió realizar análisis comparativos basados en estos parámetros. Previo a los análisis posteriores, se excluyeron mitocondrias, cloroplastos y ASVs con menos de 2 lecturas.

Posteriormente, utilizamos el paquete DECONTAM (Davis et al., 2018) para identificar posibles secuencias contaminantes en el objeto phyloseq, siguiendo el flujo de trabajo descrito en https://benjjneb.github.io/decontam/vignettes/decontam_intro.html. Luego, con la paquetería DADA2 y sobre la tabla de abundancia limpia del objeto *phyloseq*, identificamos las secuencias correspondientes a las especies presentes en las *Mock Community*.

Finalmente, inferimos el contenido génico microbiano y el potencial funcional de las comunidades de bacterias y arqueas utilizando el programa PICRUST2 (*Phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states*), siguiendo el flujo de trabajo con configuraciones predeterminadas (disponible en <https://github.com/picrust/picrust2/wiki/Full-pipeline-script>) (Douglas et al., 2019). Y validamos la confiabilidad de las predicciones con los valores del “*Nearest sequenced taxon index*” (NSTI \leq 2).

2.1.2.2 Análisis ecológico de las comunidades de bacterias y arqueas

En un primer paso, se realizaron curvas de acumulación de especies (riqueza) contra el número de secuencias por muestra (profundidad de secuenciación) por profundidad, con la finalidad de identificar el número mínimo de secuencias necesarias para completar el censo de los ASVs por muestra. Este paso es crucial para asegurar un muestreo adecuado y comparabilidad entre muestras. Para ello, se utilizó la paquetería phyloseq (McMurdie & Holmes, 2013).

Se calcularon los índices de riqueza (número de ASVs), Shannon, Simpson y Gini utilizando el paquete `microbiome` v.1.12 (Lahti y Shetty, 2017) sobre un conjunto de datos rarificado (39028 secuencias/muestra) para controlar la profundidad desigual de secuenciación. Previo a los análisis estadísticos, se evaluaron los supuestos de normalidad (prueba de Shapiro-Wilk, función `shapiro.test`) y homocedasticidad (prueba de Bartlett, función `bartlett.test`); en los casos donde no se cumplieron, se aplicó la transformación de Tukey (función `transformTukey`; `rcompanion` v.2.4.1; (Mangiafico, 2016). Se determinaron las diferencias significativas entre profundidades, región y campaña oceanográfica (ver Tabla 8) mediante one-way ANOVA y prueba *post-hoc* de Tukey, considerando un valor de $p < 0.05$ como significativo. El índice de Gini, que refleja la desigualdad en la distribución de elementos, en nuestro caso, de ASVs entre las profundidades (Agogué et al., 2011), se calculó a partir de las abundancias relativas de los ASVs por profundidad.

La diversidad beta se evaluó mediante escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) basado en distancias de UniFrac (ponderadas y no ponderadas; (Lozupone & Knight, 2005), aplicado sobre datos transformados mediante la *centered log-ratio transformation* (CLR; (Aitchison, 1986) para corregir composicionalidad. La estructura de las comunidades microbianas se contrastó estadísticamente usando PERMANOVA (función `adonis2`; 9999 permutaciones), considerando como factores las profundidades, región y campaña oceanográfica (Tabla 8); para comparaciones *post-hoc* entre pares de categorías significativas, se empleó la función `pairwise.adonis` (Arbizu, 2020), adoptando $p < 0.05$ como umbral de significancia estadística, ambas funciones de `vegan` v.2.6 (Oksanen et al., 2019). Previo a estos análisis, se verificó la homogeneidad de las dispersiones multivariantes mediante la función `betadisper` (`vegan`), procediendo con PERMANOVA solo cuando este supuesto se cumplió ($p \geq 0.05$), lo que garantiza que las diferencias detectadas reflejan variaciones en la composición media de las comunidades y no en su heterogeneidad interna.

El análisis de redundancia basado en distancias (db-RDA) se aplicó para identificar predictores clave de la variabilidad microbiana (función `rda`; `vegan`), utilizando el mismo conjunto de datos transformados por CLR y variables ambientales estandarizadas (función `scale`; R Core Team, 2023). La significancia del modelo se evaluó con *ANOVA-like permutation test* (Legendre y Legendre, 2012). Para determinar el modelo más parsimonioso se utilizó la función `ordistep` (`vegan`) la cual quita y pone predictores (variables ambientales) hasta encontrar el mejor ajuste garantizando la ausencia de colinealidad mediante valores de *variance inflation factor* ($VIF < 5$). Este análisis se replicó en tres conjuntos de datos: i) la comunidad total, ii) biósfera dominante (ASVs $\geq 1\%$ en al menos una muestra y abundancia media $\geq 0.1\%$ por profundidad), y iii) biósfera rara (ASVs $\leq 0.01\%$ por muestra y $\leq 0.001\%$ por profundidad); se utilizó este

método de caracterización de las biosferas ya que evita el solapamiento categórico (Shao et al., 2022). La visualización de ASVs compartidos y exclusivos entre profundidades se realizó mediante diagramas de intersección (*upset plots*; Lex et al., 2014).

Por otro lado, se evaluaron las diferencias en la abundancia de ASVs entre profundidades utilizando el paquete *ALDEx2* v.1.28.1 (Fernandes et al., 2013; Gloor et al., 2016). Para ello, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (*aldex.kw*) sobre datos transformados mediante CLR, considerando únicamente ASVs con una prevalencia $\geq 10\%$ por profundidad. La magnitud del efecto (*aldex.effect*) se empleó para identificar diferencias biológicamente relevantes entre pares de profundidades, adoptando un cutoff ≥ 1 según las recomendaciones de los desarrolladores. Este enfoque garantizó que solo los ASVs con variaciones sustanciales en su distribución vertical fueron retenidos para interpretación ecológica.

Finalmente, se construyeron redes de co-ocurrencia por cada profundidad, para ello se subdividió el conjunto de datos por profundidad con la función *subset_samples* de la paquetería *Phyloseq*. A continuación se filtraron las tablas de abundancia para retener los ASVs presentes en el 60-70% de las muestras, empleando la función *phyloseq_filter_prevalence* de *metagMisc* v.0.0.4 (Mikryukov, 2018) y así evitar sesgos de muestreo. Luego, se construyeron las redes con la función *spiec.easi* de la paquetería *SpiecEasi* v.1.1.2 (Kurtz et al., 2015), transformó cada tabla de abundancias mediante el método *clr* y luego las convirtió en matrices de adyacencia basadas en la covarianza. Para estimar la dependencia condicional de cada par de ASVs se utilizó el método *Meinshausen–Buhlmann neighborhood algorithm* "MB", y el método *Stability Approach to Regularization Selection (StARS)* para encontrar el parámetro de dispersión óptimo; como valor mínimo de λ se utilizó 0.01 en las cuatro redes. Finalmente con las matrices de adyacencia y las funciones *getRefit* y *adj2igraph* de la paquetería *igraph* v.1.2.11 (Csardi & Nepusz, 2006) se obtuvieron los valores de refit para la construcción de los objetos *igraph* que corresponden a las redes *per se*.

Se analizaron las propiedades de las redes, determinando número de nodos o ASVs en cada red (con la función *vcount*), número de bordes o lo que es lo mismo al número de correlaciones significativas entre los ASVs (función *ecount*) y número de bordes positivos y negativos. De igual forma, a cada nodo de cada red se le determinó el *degree* que representa el número de bordes conectados por cada nodo (función *degree*), *closeness centrality* que indica que tan central es cada nodo con respecto a toda la red (función *closeness*) y *betweenness centrality* que corresponde al número total de rutas más cortas desde todos los nodos a todos los otros nodos que pasan a través de un nodo en particular; para evaluar si había

cambios significativos en el *degree*, *closeness* y *betweenness* entre las redes de cada profundidad se utilizó el estadístico Wilcoxon con la función `stat_compare_means` de la paquetería `ggpubr` v.0.3.0 con un ajuste del *p-value* con el método de Holm. Y por último se identificaron las *hub species* que corresponden a nodos (ASVs) con alto *degree* que están altamente conectados en la red y los *keystones species*, para estos últimos se seleccionaron los los nodos con mayor *degree* y *betweenness centrality* y *closeness centrality* en comparación con el resto de los nodos de cada red por profundidad.

2.2 Subtema 2: Del análisis del potencial funcional de genomas de bacterias y arqueas a partir de MAGs

2.2.1 Selección de las muestras

El proceso de colecta de las muestras procesadas en este capítulo se describió en la sección de Métodos del Subtema 1 (subsección 2.1.1.1 Muestreo y caracterización fisicoquímica). De las 95 muestras analizadas por *metabarcoding* se seleccionaron 18 según los siguientes cuatro criterios:

Criterio 1: Las muestras debían proceder de estaciones representadas por al menos tres profundidades, y que éstas incluyeran la profundidad denominada como FONDO (Figura 5 y Tabla 8). De las 95 muestras analizadas mediante *metabarcoding*, se identificaron 14 estaciones que cumplieran este criterio (A10-X5, A4-X5, A7-X5, PO1-X5, C22-X5, H46-X5, D27-X6, D30-X6, F37-X6, Y7-X6, A6-X7, C23-X7, Y6-X7). La decisión de utilizar las estaciones denominadas profunda (que comprenden estaciones con muestras conjuntas de las profundidades ZMOR, 1000 m y FONDO) y no las someras (con muestras de las profundidades ZMOR, 800 m y 1000 m), se basó en la necesidad de analizar con mayor amplitud la distribución vertical de las comunidades de bacterias y arqueas, y entender mejor la función de las comunidades del batipelágico, tal como se hizo en el Subtema 1, que entre otras características alberga organismos implicados en la degradación de hidrocarburos.

Criterio 2: Las estaciones debían proceder de diferentes regiones del GdM: norte, centro, sur, y Corriente de Lazo (CL) (Tabla 8). De las 14 estaciones profundas, en la región norte se encontraron cuatro A4-X5, A6-X7, A7-X5 y A7-X7, en centro también cuatro C22-X5, C23-X7, D27-X6 y D30-X6, en sur dos F37-X6 y H46-X5, y en Corriente de Lazo cuatro A10-X5, PO1-X5, Y6-X7 y Y7-X5. Para discernir cuales estaciones seleccionar por región se siguieron los siguientes dos criterios.

Criterio 3: Para garantizar que cada estación analizada reflejaba de manera fidedigna las comunidades microbianas de su estrato de profundidad, eliminamos aquellas donde las muestras mostraron similitudes con otras profundidades (Figura 7), es decir, que se solaparan con otras profundidades. Con este criterio se buscó analizar estaciones “representativas” de cada profundidad. Se descartaron las estaciones D27-X6 y D30-X6 de la zona centro, ya que las muestras de 1000 m de estas estaciones se solapaban con las estaciones de FONDO; lo mismo fue con la estación H46-X5 cuya muestra de FONDO se solapaba con las estaciones de 800 m, por lo que quedó F37-X6 como única representante de esta región.

Criterio 4: Entre las muestras de la profundidad de FONDO algunas debían presentar alta abundancia de taxones relacionados con la degradación de hidrocarburos, para ello se creó una lista de referencias de géneros de bacterias marinas degradadoras de hidrocarburos (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Con base en ella, se seleccionaron las estaciones A4-X5, A6-X7 de la zona norte, ya que A4-X5 presentó alta abundancia de los géneros *Alcanivorax* y *Alteromonas*, y A6-X7 de *Acinetobacter*, *Alteromonas* y *Psychrobacter* (Figura 31); por lo que las otras dos estaciones del norte fueron descartadas. En la región del centro se seleccionó a C22-X5 debido a su alta abundancia del género *Alcanivorax* tanto a 1000 m como FONDO. Y en la zona de la CL a Y6-X7 y no Y7-X5, debido a la presencia de *Enhydrobacter* y *Acinetobacter* en Y6. Adicionalmente, se analizó también la estación PO1-X5 debido a su ubicación en el anticiclón Poseidon, el cual ha sido ampliamente estudiado por diferentes grupos del Consorcio de Investigación del Golfo de México (CIGoM, [\(Félix-Bermúdez et al., 2023; Valencia-Gasti et al., 2022\)](#)).

2.2.2 Preparación de las bibliotecas y secuenciación

La extracción, purificación y cuantificación del ADN de cada muestra se describió en la subsección 2.1.1.2 Extracción del ADN, preparación de librerías y secuenciación del Subtema 1. Para asegurar buenos resultados en la secuenciación se usaron como mínimo 20 ng totales por muestra. Las muestras se secuenciaron en la Unidad de Genómica del Instituto Gulbenkian de Ciencia (IGC) en Portugal, donde se realizó la preparación de las bibliotecas utilizando el kit Nextera XT de Illumina. La secuenciación se llevó a cabo en la plataforma Illumina NextSeq 2000.

2.2.3 Análisis bioinformáticos

Las lecturas resultantes de la secuenciación *shotgun* se descargaron desde el servicio de almacenamiento

de Illumina y se transfirieron a la infraestructura de computación del *Josephine Bay Paul Center* (JBPC) del *Marine Biological Laboratory* (MBL), afiliado a la Universidad de Chicago. En este centro, se llevaron a cabo todos los procedimientos bioinformáticos que se describen a continuación y culminaron con la obtención de MAGs.

2.2.4 Control de calidad de las lecturas

Como primer paso luego de la secuenciación se evaluó la calidad de las secuencias con el programa `c v0.12` (Andrews et al., 2015). El siguiente paso consistió en un proceso de filtrado por calidad con la función `iu-filter-quality-minoche` del paquete *Illumina Utils* de Python (Eren et al., 2013; Minoche et al., 2011), empleando los parámetros en su configuración predeterminada.

Para el segundo paso se utilizó la herramienta *Trimomatic v0.36* (Bolger et al., 2014). Los parámetros utilizados fueron los siguientes, *ILLUMINACLIP* función para la eliminación de adaptadores del kit *NexteraXT* de Illumina (secuencia CTGTCTCTTATACACATCT) con valores de 2:30:10, *LEADING* y *TRAILING* con valor de 20, *SLIDINGWINDOW* con los valores 4:25, *MINLEN* de 50; y *CROP* de 145. Lo que significó que se eliminaron las secuencias de adaptadores dejando sólo secuencias de valor biológico, se recortaron las bases de baja calidad al principio y al final de las lecturas, se descartaron las lecturas que eran demasiado cortas y se limitaron todas las lecturas a una longitud máxima de 145 bases.

El tercer y último paso se centró en la eliminación de posibles lecturas contaminantes del bacteriófago *PhiX* y del ADN humano, que son considerados contaminantes técnicos en el proceso de secuenciación. Este paso implicó, en primer lugar, el mapeo (alineamiento) y filtrado de las lecturas contaminantes utilizando las herramientas bioinformáticas *Bowtie2 v2.5.1* (Langmead y Salzberg, 2012) y *Samtools v1.12*. (Li et al., 2009). Para el mapeo, se utilizó el genoma *PhiX174* (RefSeq: [NC_001422](#)) como referencia para el bacteriófago, así como la base de datos del genoma humano *GRCh38* [human host genome GRCh38 \(hg38\)](#), que excluye regiones alternativas. Esta versión simplificada del genoma humano proporciona una representación estandarizada que permite realizar análisis genómicos consistentes y precisos.

Posterior a cada uno de los pasos de control de calidad descritos, se evaluaron las lecturas resultantes nuevamente con el programa *FastQC*, realizando un total de cuatro ejecuciones por muestra. Lo que nos proporcionó un análisis de la calidad de las lecturas, incluyendo aspectos como la distribución de la calidad de bases, la detección de contaminantes y presencia de adaptadores.

2.2.5 Ensamblaje de las lecturas

Una vez obtenidas las lecturas que pasaron los filtros de calidad, el siguiente paso fue el ensamblado en contigs, que son secuencias contiguas de lecturas unidas por superposición. Posteriormente, los contigs se combinaron para formar *scaffolds*, que son estructuras de mayor longitud que organizan y orientan los contigs. Para realizar este proceso, se utilizaron los ensambladores SPAdes v3.15.4 (Nurk et al., 2017) y MEGAHIT v1.2.9 (Li et al., 2015), los cuales fueron elegidos por su capacidad de ensamblaje *de novo*. SPAdes fue utilizado con parámetros predeterminados para ensamblajes de metagenomas, mientras que con MEGAHIT se probaron diferentes configuraciones: *sensitive* (función que se enfoca en recuperar la mayor cantidad de información, incluyendo secuencias pequeñas) y *large* (diseñado para ensamblar metagenomas grandes con una alta eficiencia, priorizando la construcción de secuencias largas), además se modificó el parámetro `--min-contig-len` a 500 y 1000.

Para evaluar la calidad de los ensamblajes generados, se utilizó la herramienta QUAST v5.0.2 (Mikheenko et al., 2016). Debido a su capacidad para realizar comparaciones entre diferentes ensamblajes al mismo tiempo y proporcionar una amplia gama de métricas relevantes, como el tamaño del genoma ensamblado, el número de contigs, la longitud promedio de los contigs, el N50 y la cobertura de la referencia, entre otros. Estos datos nos permitieron determinar cuál proceso de ensamblaje fue el más adecuado para nuestras muestras.

Los resultados de QUAST mostraron que MEGAHIT, a pesar de un rendimiento similar al de SPAdes, ofrecía una mayor eficiencia computacional. Por lo tanto, se decidió utilizar MEGAHIT para el ensamblaje final de las muestras.

Para evaluar la calidad de los ensamblajes, determinar la abundancia relativa de cada contig y preparar los datos para el posterior *binning*, se alinearon las lecturas de secuenciación originales (obtenidas después del control de calidad) contra los contigs generados por ensamblaje. Este proceso de mapeo permitió evaluar el porcentaje de alineamiento de las lecturas en los contigs, para ello se utilizó nuevamente la herramienta Bowtie2 (Langmead & Salzberg, 2012).

2.2.6 Binning

Como siguiente paso en la construcción de los MAGs, los contigs se agruparon mediante un proceso

conocido como *binning*, que permite la clasificación fragmentos de ADN (en nuestro caso los contigs) en grupos más extensos (*bins*) que representan genomas microbianos individuales. Este método aprovecha patrones intrínsecos del ADN, como la composición nucleotídica (ej. %GC, frecuencia de k-mers) y la abundancia diferencial entre muestras, para discriminar entre genomas de distintas especies presentes en la comunidad microbiana. Para ello se utilizó la herramienta MetaWrap v1.3 (Uritskiy et al., 2018), una plataforma que nos permitió ejecutar simultáneamente varias herramientas de *binning*. Se emplearon tres herramientas, MetaBAT2 (Kang et al., 2015), MaxBin2 (Wu et al., 2016) y CONCOCT (Alneberg et al., 2014).

Para evaluar la calidad de los *bins* generados por las diferentes herramientas y consolidar los *bins* individuales en un único conjunto de *bins* más completos, se utilizó la herramienta Das Tool (Sieber et al., 2018). la cual busca maximizar la completitud de los *bins* y minimizar la contaminación. La función de Das Tool es identificar genes únicos de copia única (SCGs, por sus siglas en inglés) en cada conjunto de *bins* proporcionado y agrupa aquellos que comparten SCGs comunes, creando un bin de consenso que incluye la mayor cantidad posible de SCGs sin duplicados. Este enfoque permitió obtener *bins* de mayor calidad y mejorar la precisión de los análisis posteriores.

En el proceso, se utilizaron los archivos de mapeo que relacionan los contigs con los *bins* generados por las tres herramientas de *binning* (MetaBAT2, MaxBin2 y CONCOCT), así como el archivo original de contigs. Para identificar los genes únicos de copia única (SCGs) en el metagenoma, se empleó la función blastp, que compara cada gen candidato contra una base de datos completa de proteínas. Esta búsqueda dentro de Das Tool permite identificar y clasificar los SCGs, facilitando la creación de *bins* de consenso más completos y precisos a partir de los datos proporcionados.

La completitud (proporción del genoma microbiano recuperado en un *bin* respecto a un genoma de referencia completo) y la contaminación (presencia de secuencias genómicas de otros organismos en el *bin*, producto de errores de ensamblado o mezcla de especies) de los *bins* resultantes se evaluaron utilizando CheckM2 (Chklovski et al., 2023). Esta herramienta emplea un enfoque de aprendizaje automático supervisado basado en gradient boosting, entrenado con un conjunto diverso de genomas de referencia, para predecir la completitud y contaminación. A diferencia de métodos tradicionales como CheckM1 (que dependen de marcadores genéticos universales), CheckM2 es especialmente preciso para genomas de baja calidad (alta fragmentación), linajes poco representados en bases de datos (p. ej: arqueas) y genomas reducidos, gracias a su capacidad de generalizar patrones genómicos sin depender de homologías conocidas

2.2.7 Asignación taxonómica de los bins

Para la clasificación taxonómica de los *bins* generados, se utilizó la base de datos GTDB-TK (*Genome Taxonomy Database Toolkit*) v.2.4.0. Inicialmente, se construyó una base de datos con MASH (Qndov et al., 2016), una herramienta basada en el algoritmo MinHash que permite estimar rápidamente la similitud genómica mediante la comparación de secuencias cortas (*k*-mers). Posteriormente, se ejecutó el flujo de trabajo de clasificación de GTDB-TK, denominado *classify_wf*, para cada muestra, utilizando como entrada los *bins* generados por DAS Tool. En este proceso, se consideraron únicamente aquellos genomas que cumplieran con los criterios de calidad establecidos, que incluían un porcentaje de completitud mayor o igual al 85% y una contaminación máxima del 10%, siguiendo las recomendaciones de (Singh et al., 2023), a partir de este punto los *bins* son llamados *Metagenome-assembled genomes* (MAGs). Este enfoque aseguró que solo se incluyeran en el análisis taxonómico genomas de alta calidad, mejorando así la fiabilidad de las clasificaciones obtenidas.

Con el objetivo de comparar los resultados de la taxonomía obtenidos con *metabarcoding*, detallados en el Subtema 1, con los derivados de la secuenciación *shotgun* y evaluar posibles pérdidas de diversidad, en los MAGs obtenidos se empleó el programa Kraken2 v2.0.8 (Wood et al., 2019). Utilizando la base de datos estándar y parámetros específicos (*k-mer=35*, *minimizer-len=31*, *minimizer-spaces=7*, *--report-zero-counts*), se procedió a clasificar las 18 muestras tras su procesamiento con *Trimmomatic*. Posteriormente, se utilizó Bracken v2.5.3 (Lu et al., 2017), empleando lecturas de 145 pb, para estimar la abundancia taxonómica a nivel de orden. Este enfoque permitió una evaluación taxonómica detallada y una comparación con los resultados obtenidos mediante *metabarcoding*. Además, este análisis fue independiente del proceso de generación de MAGs y se centró exclusivamente en caracterizar la composición microbiana a partir de lecturas crudas, complementando la perspectiva taxonómica derivada del ensamblaje.

2.2.8 Anotación funcional y análisis biogeoquímicos

La anotación funcional de los MAGs se realizó mediante el programa Prokka v1.14.6 (Seemann, 2014) (diseñado para el análisis de genomas incompletos o no referenciados) y utilizando el algoritmo Prodigal v2.6.3 en modo *meta*, con lo que se identificaron regiones genómicas codificantes de proteínas (*ORFs*) y se generaron las secuencias proteicas correspondientes (.faa). Las funciones preliminares se asignaron mediante comparación con las bases de datos UniProtKB, Swiss-Prot, TIGRfam y Pfam.

Los archivos de proteínas (.faa) generados con Prokka se procesaron con el programa METABOLIC-G v4.0 (Zhou et al., 2022) para caracterizar vías metabólicas y ciclos biogeoquímicos. En este análisis, se realizó una búsqueda de Modelos Ocultos de Markov (HMMs: por sus siglas en inglés) sobre las secuencias proteicas utilizando el comando `hmmsearch`, lo que permitió identificar la presencia de dominios metabólicos relevantes asociados a diferentes funciones presentes en las bases de datos KEGG, KOfam, Pfam y perfiles personalizados. Para cada HMM, se estableció un umbral de corte del 75%, lo que significa que, para que un módulo KEGG se considerará presente, al menos el 75% de los pasos que lo componen debían ser detectados. Las coincidencias que superan este umbral se registran en una hoja de resultados llamada *FunctionHit*. Esta hoja se estructura como una tabla, en la que cada fila representa un gen específico y cada columna corresponde a un MAG, indicando si la función está presente o ausente. Los resultados se visualizaron como *heatmaps* estratificados por profundidad (ZMOR, 1000 m, Fondo) y diagramas de flujo de ciclos elementales (C, N, S).

Capítulo 3. Resultados

3.1 Subtema 1: De la caracterización de las comunidades de bacterias y arqueas, mediante *metabarcoding*

3.1.1 Contexto fisicoquímico

Las propiedades fisicoquímicas del agua de mar variaron significativamente entre las distintas profundidades muestreadas, tal como se detalla en la Tabla 2 y Tabla 9. En el caso de la ZMOR, las muestras procedían del núcleo de la masa de agua TACW, cuyas características incluyen una temperatura conservativa de 10.1 ± 0.7 °C y una salinidad absoluta de 35.41 ± 0.10 g kg⁻¹, ubicándose en el rango isopicnal de 27 a 27.2 kg m⁻³. Como era de esperarse, las concentraciones de OD fueron particularmente bajas en esta profundidad, con valores superiores a 120 µmol kg⁻¹ en estaciones de la CL y los remolinos anticiclónicos asociados (PO1, A10, B18, Y6, Y7, Y9), mientras que en las estaciones costeras (H45, G40, G44, C21) los valores registraron menos de 110 µmol kg⁻¹ (resultados no mostrados). El CAO alcanzó su pico máximo en la ZMOR (166.8 ± 4 µmol kg⁻¹ de promedio) y el mínimo en la zona bentónica (116.8 ± 4 µmol kg⁻¹). Cabe destacar que la distribución espacial del CAO siguió un patrón inverso al del OD, los valores más altos coincidieron con las estaciones cercanas a la costa, y disminuyeron progresivamente hacia el interior de la CL.

En cuanto a las profundidades de 800 y 1000 m, estas se constituyen de agua de la masa AAIW. A los 1000 m se identificó una zona de transición entre la AAIW y la NADW (isopicna de 27.6 kg m⁻³), producto de procesos de mesoescala que alteraron la distribución de las isopicnas. Cabe señalar que la AAIW quedó restringida al intervalo isopicnal 27.4–27.5 kg m³ (Tabla 9). En estas profundidades, el OD registró una tendencia ascendente, en contraste con el CAO, que disminuyó hacia el FONDO.

Finalmente, la profundidad de FONDO se asoció a la masa de agua NADW, con una temperatura conservativa de 4.1 ± 0.1 °C, salinidad absoluta de 35.15 ± 0.00 g kg⁻¹ e isopicna de 27.7 kg m⁻³. Destaca que las concentraciones de OD en esta zona duplicaron las mediciones de la ZMOR. Por su parte, el nitrógeno (NO₃⁻ + NO₂⁻) y el PO₄³⁻ alcanzaron sus máximos a 800 m, mientras que en el FONDO se registraron los valores mínimos (Tabla 2).

Tabla 2. Caracterización fisicoquímica de las muestras de agua de mar

Profundidad	Temperatura conservativa (°C)	Salinidad absoluta (g kg ⁻¹)	Oxígeno disuelto	CAO ^a	NO ₃ ⁻ + NO ₂ ⁻	PO ₄ ³⁻
				(μmol kg ⁻¹)		
ZMOR	10.1 ^b ±0.7 ^c a ^d	35.41±0.10 a	107±5 d	166.8±4 a	26.5±1.7 b	1.6±0.1 b
800 m	6.1±0.5 b	35.09±0.01 b	139±10 c	163.8±6 a	28.5±1.5 a	1.8±0.1 a
1000 m	5.1±0.4 c	35.10±0.01 b	166±12 b	145±9b	25.6±3.5 b	1.7±0.1 a
FONDO	4.1±0.1 d	35.15±0.00 c	203±4 a	116.8±4 c	22.4±0.3 c	1.4±0.1 c
Valor de F	84.68	82.41	84.46	76.05	52.40	51.34
Valor de p	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

^a Consumo aparente de oxígeno; ^b valor promedio para cada profundidad; ^c desviación estándar; ^d en cada columna, las profundidades que comparten la misma letra no presentan diferencias significativas entre ellas, lo que indica que son estadísticamente similares según el análisis realizado (prueba de Dunn con corrección de Bonferroni-Hochberg, $p < 0.05$).

3.1.2 Análisis moleculares

La región V4 del gen 16S ARNr se amplificó exitosamente en todas las estaciones, obteniéndose fragmentos del tamaño esperado (≈ 390 pb) (Figura 29). Los controles positivos (*mock-community*) y negativos arrojaron resultados consistentes con lo esperado, lo que confirmó la adecuada ejecución del procedimiento de PCR (datos no mostrados).

3.1.3 Secuenciación y control de calidad

Se obtuvieron un total de 11 468 686 secuencias entre las tres secuenciaciones, luego del proceso de control de calidad con DADA2 y phyloseq quedaron 9 502 554 lo que representa el 82.9 %, y a partir de la cuales se obtuvo 8237 ASVs; la estación con mayor número de ASVs fue la C22-ZMOR-X5 con 1004 mientras que la C25-800-X6 fue la menor con 268. Se determinó el número de ASVs para algunas categorías (Tabla 3); el número de ASVs correspondientes al dominio *Bacteria* fue 8 veces mayor que el *Archaea*, con 7401 (90%) y 836 (10%), respectivamente. Entre las diferentes profundidades la que mayor

número de ASVs obtuvo fue la 1000 m con 4276 (que corresponde al 51.9 %), y la que menos fue 800 m con 2823 (34.3 %).

En cuanto al número de ASVs que pudieron asignarse con la base de datos SILVA v.138, todos fueron asignados a nivel de dominio, sin embargo este número fue disminuyendo en la medida que se fue bajando de nivel taxonómico, a nivel de filo se asignaron 7822 ASVs (que corresponden al 97 %), a nivel de clase 6800 (82.6%), orden 6026 (73.2%), familia 3624 (44%) y género 2000 (24.3%).

Los resultados de los controles fueron, control negativo (sin ADN) utilizando la paquetería DECOTAM no se consiguió ninguna secuencia contaminante según los parámetros utilizados; mientras que para el control positivo (*Mock community*) se identificaron seis de las nueve especies presentes en la Mock, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Limosilactobacillus fermentum* en las proporciones esperadas; los resultados fueron los esperados, lo que nos indica que no hubo contaminación de las muestras y que la secuenciación ocurrió de forma correcta.

A partir de los análisis de rarefacción se obtuvo que la profundidad de secuenciación en los tres eventos fue suficiente para censar la mayoría de los ASVs presentes en cada estación y profundidad (Figura 3). Obteniéndose que aproximadamente 50000 secuencias para las estaciones en la ZMOR a 800 y 1000 m, y 25000 secuencias para FONDO, fueron suficientes para alcanzar la mayoría de ASVs, evidenciando una tendencia hacia la asíntota en el valor de la riqueza.

Tabla 3. Número de ASVs por dominio y profundidad.

Categoría	Número de ASVs
Dominio <i>Bacteria</i>	7401
Dominio <i>Archaea</i>	836
ZMOR	4046
800 m	2823
1000 m	4276
FONDO	3043

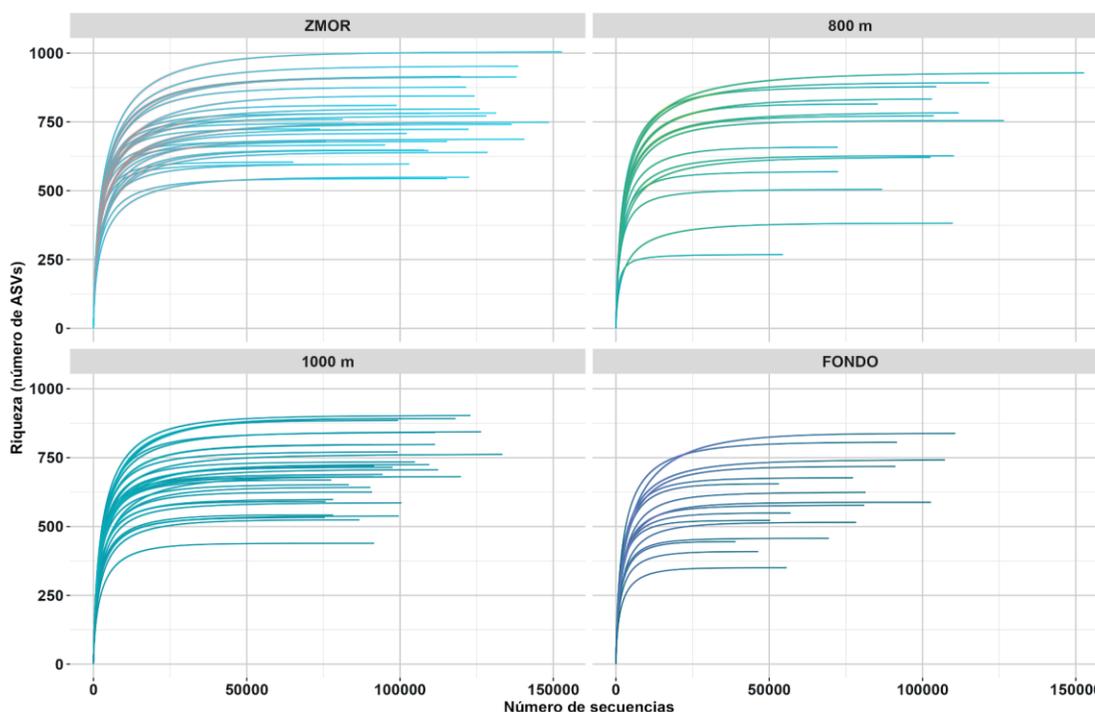


Figura 3. Gráfica de curvas de rarefacción por muestra agrupado por profundidad: Zona de Mínimo de Oxígeno Relativos (ZMOR), 800 m, 1000 m y FONDO.

3.1.4 Asignación taxonómica

Las comunidades estuvieron compuestas, en promedio, por un $62.5 \pm 6.9\%$ de filotipos de bacterias, que incluyen 40 filos, 88 clases, 206 órdenes, 234 familias y 378 géneros, y un $37.5 \pm 6.9\%$ de arqueas, con 6 filos, 7 clases, 12 órdenes, 11 familias y 7 géneros. Las arqueas mostraron una mayor abundancia relativa en las profundidades ZMOR y 800 m, mientras que en las profundidades de 1000 m y FONDO se registró el menor porcentaje (Figura 4). En contraste, las bacterias tuvieron una mayor abundancia en las aguas batipelágicas.

De los 234 órdenes, solo 19 mostraron una abundancia relativa superior al 1% (Figura 4), el más abundante fue el de las arqueas Nitrosopumilales (filo Thermoproteota) con un 26.9% de abundancia relativa promedio. Otros órdenes relevantes incluyeron *Alteromonas* (9.4%), Marine Group II y III (6.2% y 4.1%, respectivamente), SAR202 (3.6%), Bacteriovorales (2.9%), Thiomicrospirales (2.5%), Microtrichales (2.5%), Rhodospirillales (2.4%), Nitrospinales (2.0%), Sphingomonadales (1.5%), SAR86, Pseudomonadales y UBA10353 (1.4%, 1.3% y 1.3%, respectivamente), Synechococcales (1.2%), Vicinamibacterales (1%) y Oceanospirillales y HOC36 (1.1% y 1.0%, respectivamente). Además, los clados SAR324 (Marine Group B)

y Marinimicrobia (clado SAR406) presentaron abundancias de 9.6% y 7.4%, respectivamente, aunque en ambos casos los ASVs solo fueron asignados hasta el nivel de filo.

Se observó variación de la abundancia relativa de los órdenes por profundidad, Nitrosopumilales mostró una tendencia a la disminución con la profundidad, al igual que los órdenes Thiomicrospirales, SAR86, Rhodospirillales, Bacteriovoracales, Microtrichales y Nitrospinales. Mientras que Alteromonas, Pseudomonadales, Marine Group III, Oceanospirillales, Sphingomonadales, Rhodobacterales, SAR202 y Synechococcales presentaron una tendencia a aumentar con la profundidad. Sin embargo, los Marine Group II, HOC36, UBA10353 y Vicinamibacterales no mostraron patrones relacionados con la profundidad.

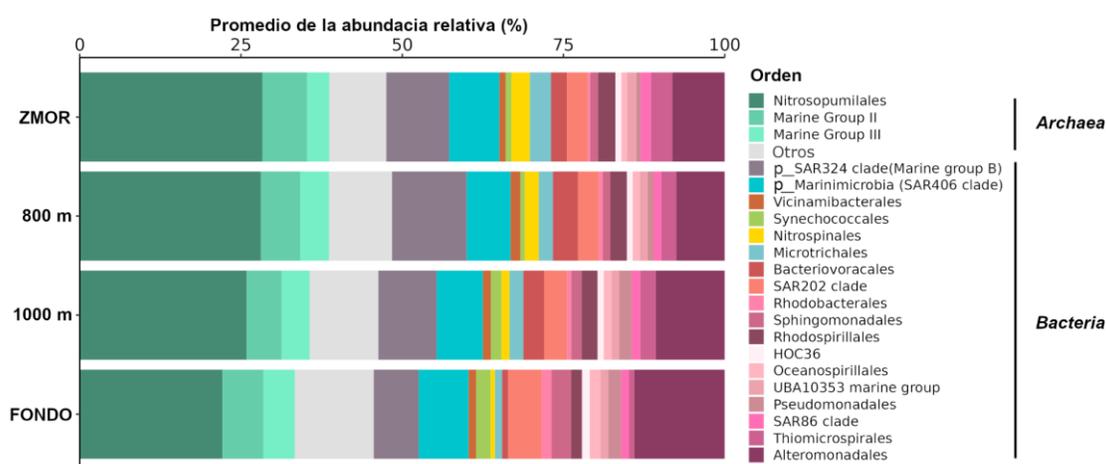


Figura 4. Gráfico de barras del promedio de la abundancia relativa (%) de los órdenes de bacterias y arqueas por profundidad. "Otros" indica grupos con <1% de abundancia relativa.

La abundancia promedio de ciertos órdenes cambió con la profundidad. Por ejemplo, el orden más abundante Nitrosopumilales disminuyó con la profundidad al igual que los Thiomicrospirales, SAR86, Rhodospirillales, Bacteriovoracales, Microtrichales y Nitrospinales, mientras que las Alteromonas aumentaron con la profundidad junto con los Pseudomonadales, Marine group III, Oceanospirillales, Sphingomonadales, Rhodobacterales, SAR202 y Synechococcales; caso contrario los HOC36, UBA10353 y Vicinamibacterales no presentaron un patrón asociado a la profundidad.

Los perfiles taxonómicos variaron entre las estaciones según la profundidad, Se observó una mayor similitud en las profundidades (ZMOR y 800 m) en comparación con las más profundas (1000 m y FONDO, Figura 5). En las profundidades superficiales, los cambios se presentaron principalmente en los órdenes más abundantes, como Nitrosopumilales, Alteromonas y Bacteriovoracales. En cambio, en la zona

batipelágica, las variaciones ocurrieron principalmente en órdenes que fueron menos abundantes dentro de la comunidad total analizada.

Entre estos órdenes menos abundantes, como se muestra en la Figura 5, se encontraron: Pseudomonadales, especialmente el género *Acinetobacter*, que predominó en C23-X7, A6-X7 y A7-X7; Oceanospirillales, con el género *Alcanivorax*, en C22-X5 y A4-X5; Sphingomonadales, representado por el género *Erythrobacter*, en D27-X6 y A10-X6; Rhodobacterales, con los géneros *Limimarinicola* y *Pelagibaca*, en A10-X6 y D30-X6; Synechococcales, concretamente la cepa *Prochlorococcus MIT9313*, en PO1-X5, D30-X6 y F37-X6; y Micavibrionales, que incluyó al género *Micavibrionaceae*, en la estación A10-X6 (Los resultados a nivel de género no se mostraron).

3.1.5 *Análisis de diversidad microbiana*

Los índices de diversidad alfa entre las profundidades revelaron una disminución significativa en la riqueza de ASVs y en el índice de Shannon, mientras que el índice de Simpson mostró un incremento significativo con la profundidad (ANOVA: Valor de $F \leq 4.8$, $P \leq 0.039$), siendo que estas diferencias observadas principalmente entre las profundidades ZMOR y FONDO (HSD de Tukey, $P \leq 0.040$) (Figura 6)

En cuanto al índice de Gini este indicó que la mayoría de los ASVs presentó una distribución desigual entre las profundidades. En este sentido, la comunidad de FONDO demostró ser la más desigual, con un 92.3% de ASVs que presentaron un índice de Gini ≥ 0.5 , mientras que la profundidad de 800 m mostró la distribución más equilibrada, con un 87.7% de ASVs (Figura 30).

Por otro lado, las regiones de muestreo no mostraron variaciones significativas ni en riqueza ni en diversidad. Sin embargo, la diversidad, medida a través de los índices de Shannon y Simpson, sí varió entre las campañas oceanográficas ($P \leq 0.012$) (resultados no mostrados).

Los análisis de diversidad beta (diferencias entre muestras) mostraron cambios significativos en la estructura de las comunidades microbianas según la profundidad, especialmente entre la zona mesopelágica (muestras ZMOR y 800 m) y la batipelágica (FONDO). Estos resultados se observaron tanto con la métrica UniFrac ponderada como con la no ponderada (Figura 7).

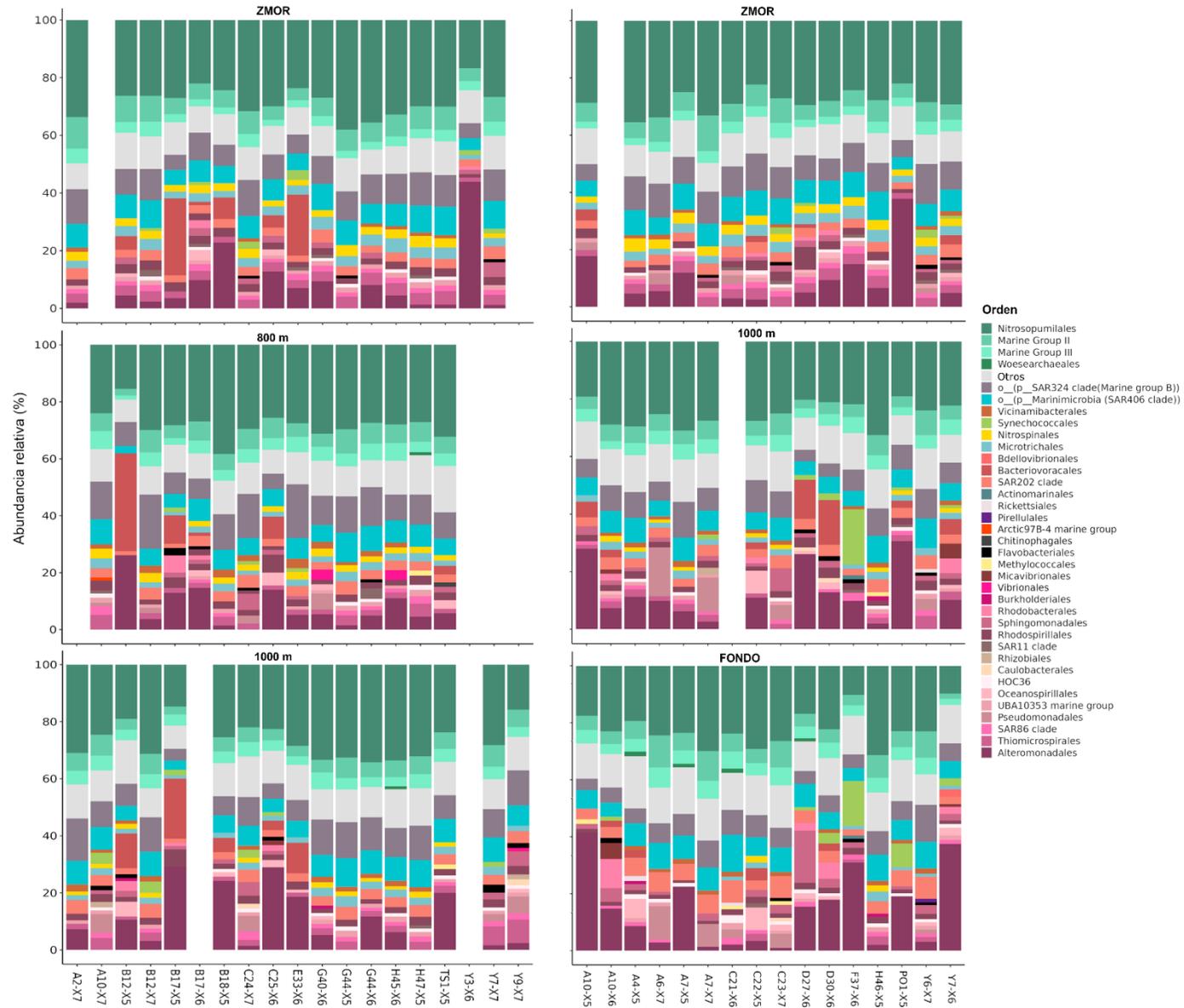


Figura 5. Gráfica de barras de la abundancia relativa de bacterias y arqueas a nivel de orden por estación. "Otros" indica órdenes con <1% de abundancia relativa.

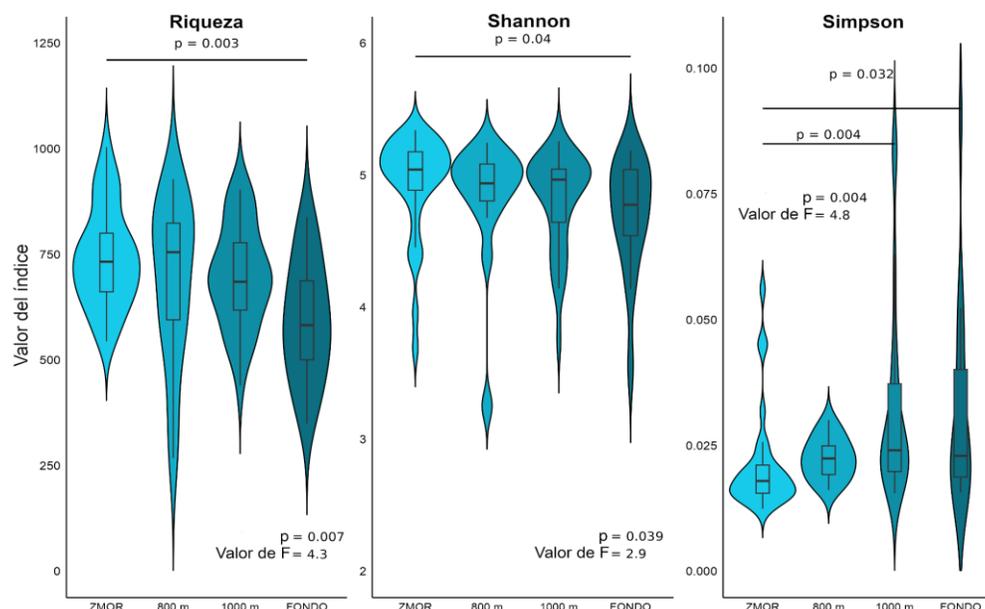


Figura 6. Índices de diversidad alfa de las comunidades de bacterias y arqueas en las diferentes profundidades. La mediana está representada por la línea central en el diagrama de caja y bigotes; los valores de F y p corresponden a la prueba de ANOVA, mientras que los valores de p en la parte superior indican diferencias significativas entre comparaciones por pares de profundidades (prueba HSD de Tukey, $p < 0,05$).

Dentro de la zona mesopelágica, las comunidades mostraron homogeneidad estructural, con diferencias mínimas entre profundidades. Sin embargo, al eliminar los datos de abundancia de filotipos (UniFrac no ponderado), la variabilidad entre profundidades aumentó, permitiendo una distinción clara entre ellas. Estos patrones fueron respaldados estadísticamente por el análisis PERMANOVA, que confirmó un efecto significativo de las profundidades en la variabilidad de la comunidad (Figura 7 y Tabla 10).

Por otro lado, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las campañas oceanográficas (*Betadisper* ponderado y no ponderado, $p < 0.05$; Tabla 10). Sin embargo, al estratificar la comunidad microbiana por profundidades (ZMOR, 800 m, 1000 m y FONDO) y evaluar el efecto de la campaña, se detectaron diferencias significativas entre las campañas XIXIMI-06 y XIXIMI-07 en las profundidades ZMOR, 1000 m y FONDO. En cuanto a las regiones geográficas, se observaron diferencias notables, particularmente entre estaciones en la CL frente a las del norte y sur, y entre las regiones central y sur, especialmente en las profundidades ZMOR y 1000 m.

La estructura de la comunidad microbiana a lo largo del gradiente de profundidad también se analizó mediante gráficos UpSet (Figura 8), separando los datos en tres conjuntos: la comunidad total, la biósfera

dominante (que incluyen ASVs $\geq 1\%$ de abundancia relativa en al menos una muestra y abundancia media $\geq 0.1\%$ por profundidad), y iii) biósfera rara (ASVs $\leq 0.01\%$ por muestra y $\leq 0.001\%$ por profundidad).

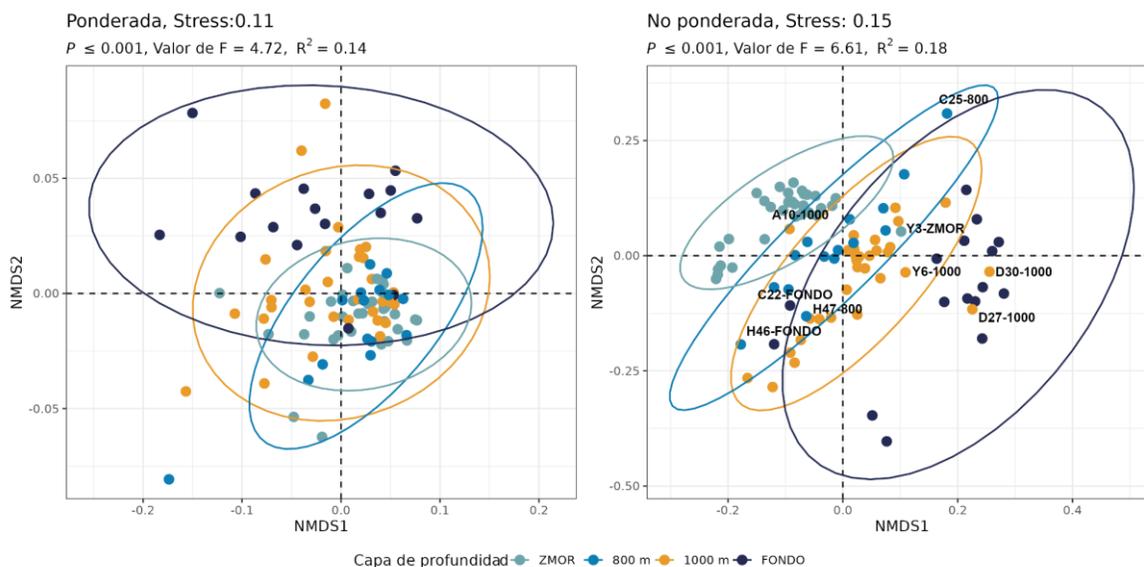


Figura 7. Gráficos de ordenación mediante escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) basados en las distancias UniFrac ponderadas y no ponderadas de las comunidades de bacterias y arqueas en las diferentes profundidades. Las estaciones etiquetadas representan aquellas que se encuentran solapadas dentro de otra profundidad, diferente de la que les corresponde.

Del total de ASVs identificados, el 38.5% (3049 ASV) se compartió entre al menos dos profundidades (Figura 8a). De estos, 1003 ASVs (12.7%) estuvieron presentes en las cuatro profundidades (ZMOR, 800 m, 1000 m, FONDO). La profundidad ZMOR destacó por albergar la mayor proporción de ASVs únicos (23.5%), seguida de 1000 m (17.2%), FONDO (12.7%) y 800 m (8%). Los solapamientos entre pares de profundidades siguieron un gradiente ambiental, las mayores proporciones correspondieron a 1000 m-FONDO (6.1%) y 800 m-1000 m (4%), mientras que las menores se registraron en ZMOR-FONDO (0.7%) y 800 m-FONDO (0.4%). Las combinaciones tripartitas más relevantes fueron ZMOR-800-1000 m (329 ASV; 4.2%) y 800-1000-FONDO (230 ASV; 2.9%), lo que reflejó una conectividad decreciente entre profundidades superficiales y batipelágicas.

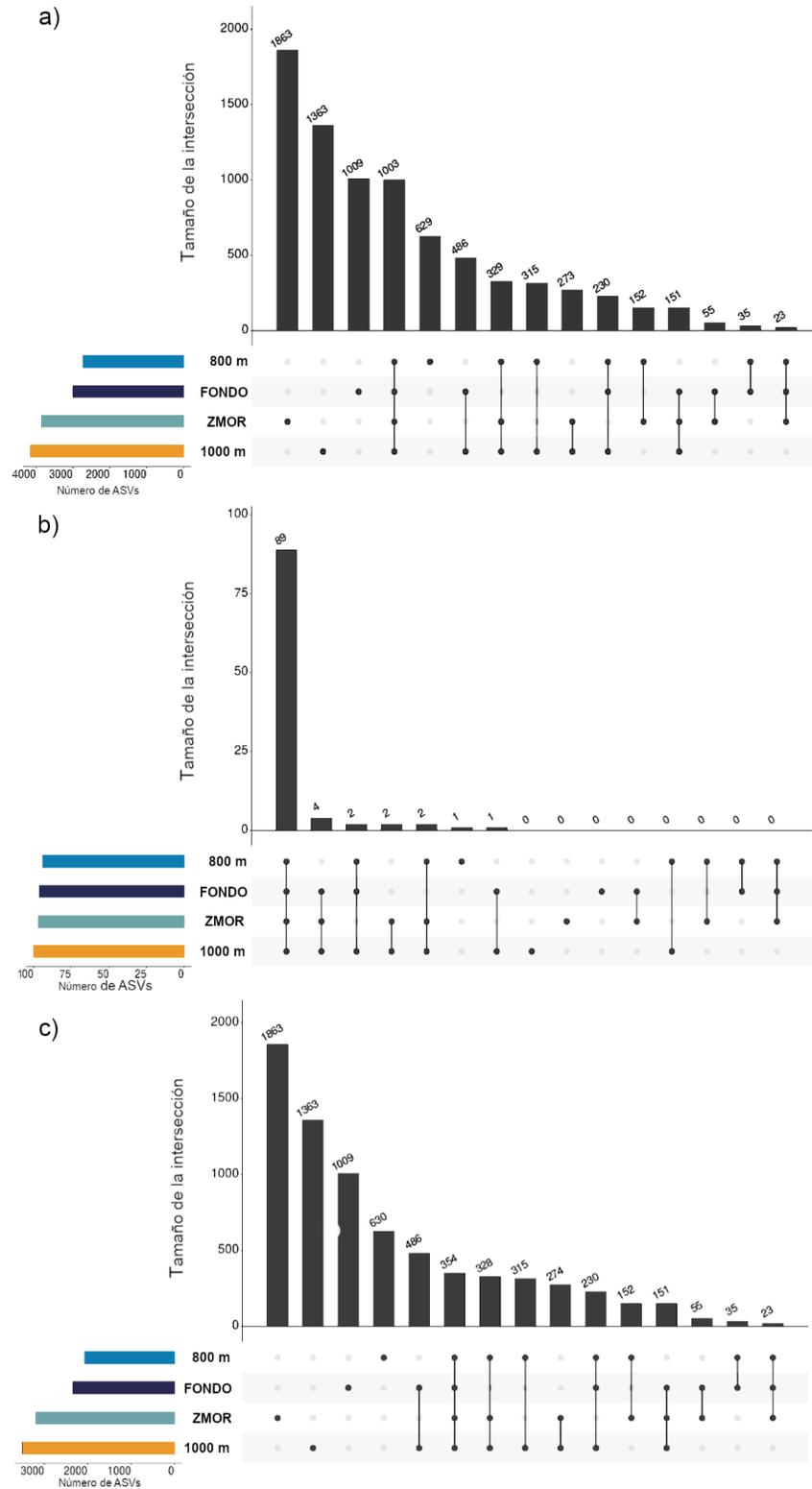


Figura 8. Distribución de los ASVs de bacterias y arqueas en las distintas profundidades mediante gráficos UpSet. Para la a) comunidad total; b) biónsfera dominante (ASVs $\geq 1\%$ de abundancia relativa en al menos una muestra y abundancia media $\geq 0.1\%$ por profundidad); y c) biónsfera rara (ASVs $\leq 0.01\%$ por muestra y $\leq 0.001\%$ por profundidad).

Por otro lado, para los ASVs de la biósfera dominante, el 80.9% se compartieron en las cuatro profundidades, mostrando una alta abundancia relativa (Figura 8b y Figura 9). Este subconjunto casi no presentó especialización por profundidad, solo hubo un ASV fue único en 800 m, y los solapamientos entre pares fueron mínimos (ZMOR-1000 m: dos ASVs; 1000 m-FONDO: un ASV). Siendo los órdenes Nitrosopumilales, Alteromonadales y el clado SAR324 fueron los más abundantes en todas las profundidades (Figura 9). Nitrosopumilales, por su parte registró valores entre 18% (FONDO) y 21.9% (800 m), mientras que Alteromonadales aumentó gradualmente desde 7.6% (ZMOR) hasta 13.5% (FONDO). SAR324 alcanzó su máximo en 800 m (10.7%). En ZMOR, Marine Group II (5.1%) y Thiomicrospirales (3.1%) tuvieron las mayores abundancias comparados con otras profundidades, mientras que en FONDO destacaron Sphingomonadales (2.8%) y Rhodobacterales (1.3%). Órdenes minoritarios como Bdellovibrionales (<0.16%), Methylococcales (<0.28%) y Caulobacterales (<0.16%) mantuvieron valores bajos pero constantes en todas las profundidades. Por otro lado, entre el 37% y 41.4% de los ASVs por profundidad pertenecieron a la biósfera rara, incluyendo tanto ASVs únicos como aquellos compartidos parcialmente entre profundidades, pero con abundancias siempre inferiores al umbral de dominancia; con proporciones de 41.4% en ZMOR, 37.0% en 800 m, 37.1% en 1000 m y 40.9% en FONDO.

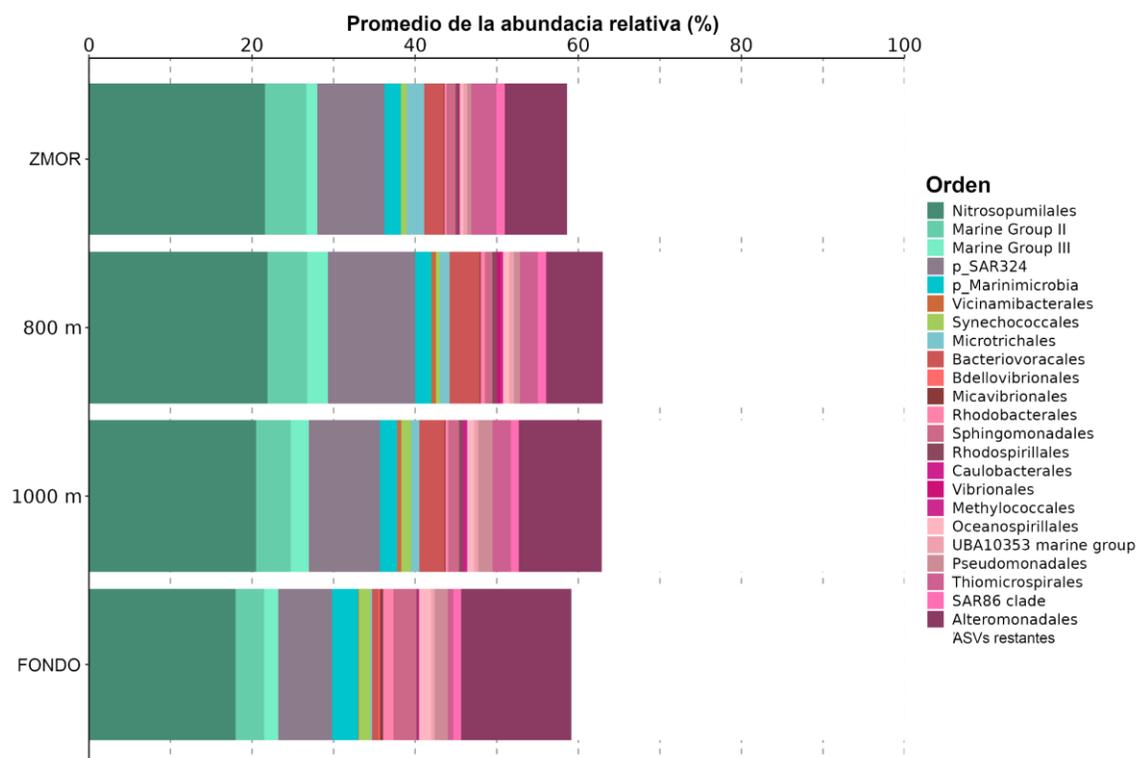


Figura 9. Gráfico de barras del promedio de la abundancia relativa de los 89 ASVs compartidos por todas las profundidades (ZMOR, 800 m, 1000 m y FONDO) de la biosfera dominante. Las barras asignadas a ASVs restantes se corresponden a la abundancia relativa promedio de todos los ASVs restantes que constituyen cada profundidad.

Todos los ASVs únicos identificados en la comunidad total (ZMOR: 23.5%, 800 m: 8%, 1000 m: 17.2%, FONDO: 12.7%), así como aquellos compartidos entre pares y tríos de profundidades, pertenecieron predominantemente a la biósfera rara (Figura 8c). Adicionalmente, se identificaron 649 ASVs (8.2%) no clasificados en las biosferas dominante o rara, de los cuales 560 (7%) estuvieron compartidas entre todas las profundidades.

3.1.6 *Efecto de las variables ambientales en las comunidades de bacterias y arqueas*

El análisis *ANOVA-like* mostró que diferentes variables ambientales tienen un efecto significativo en la estructura de la comunidad de bacterias y arqueas (Tabla 4). En particular, la profundidad, la salinidad absoluta, la temperatura conservativa y el CAO afectaron de manera significativa a los tres conjuntos de datos analizados, toda la comunidad, la biosfera dominante y la biosfera rara ($p < 0.001$). Además, la latitud, longitud y la concentración de fosfatos (PO_4) mostraron un efecto significativo en la biosfera dominante ($p < 0.044$). Y la profundidad del suelo marino mostró un efecto significativo sólo en la biosfera rara ($p = 0.030$).

Para la construcción de los modelos de db-RDA, se seleccionaron únicamente variables sin colinealidad ($VIF < 5$), lo que permitió obtener resultados más claros sobre la influencia de cada variable en las comunidades de bacterias y arqueas. Los modelos mostraron que la profundidad, la salinidad absoluta y el CAO explicaron colectivamente el 35% de la variabilidad para toda la comunidad ($p < 0.001$, Figura 10a). Específicamente, las comunidades en ZMOR exhibieron una correlación positiva con la salinidad absoluta, mientras que las muestras de 800 m y 1000 m mostraron una correlación negativa; además, FONDO mostró una correlación positiva con la profundidad y negativa con CAO. Este patrón de correlaciones fue consistente también para ambas biosferas, la dominante y rara. Para la biosfera dominante (Figura 10b), FONDO también mostró una influencia positiva de la latitud y la longitud, y negativa con la concentración de PO_4 ; mientras que en la muestra de 800 m hubo el patrón contrario. En conjunto, todas las variables explicaron el 47% de la variabilidad en la biosfera dominante. Por otro lado, para la biosfera rara (Figura 10c), FONDO mostró una correlación positiva con la profundidad del suelo marino, y todas las variables colectivamente explicaron el 44% de la variabilidad.

Tabla 4. Efecto de las variables ambientales sobre la estructura de la comunidad de bacterias y arqueas. La tabla muestra los resultados del ANOVA-like (valores F y p) para la comunidad completa, biosfera dominante y biosfera rara.

Variable ambiental	Toda la comunidad (Todos los ASVs)		Biosfera dominante ¹		Biosfera rara ²	
	Valor de F	P	Valor de F	P	Valor de F	P
Profundidad del suelo marino	1.501	0.116	0.010	0.091	0.014	0.030
Profundidad	20.768	< 0.001	0.236	< 0.001	0.255	< 0.001
Salinidad absoluta	24.638	< 0.001	0.122	< 0.001	0.145	< 0.001
Temperatura conservativa	6.123	< 0.001	0.039	< 0.003	0.021	0.0053
CAO ³	2.899	0.0056	0.026	0.001	0.018	0.011
Latitud	1.374	0.150	0.025	0.001	0.004	0.610
Longitud	1.635	0.084	0.013	0.044	0.009	0.125
NO ₃ ⁻ +NO ₂ ⁻	0.811	0.674	0.002	0.931	0.005	0.405
PO ₄	1.627	0.083	0.018	0.010	0.009	0.129

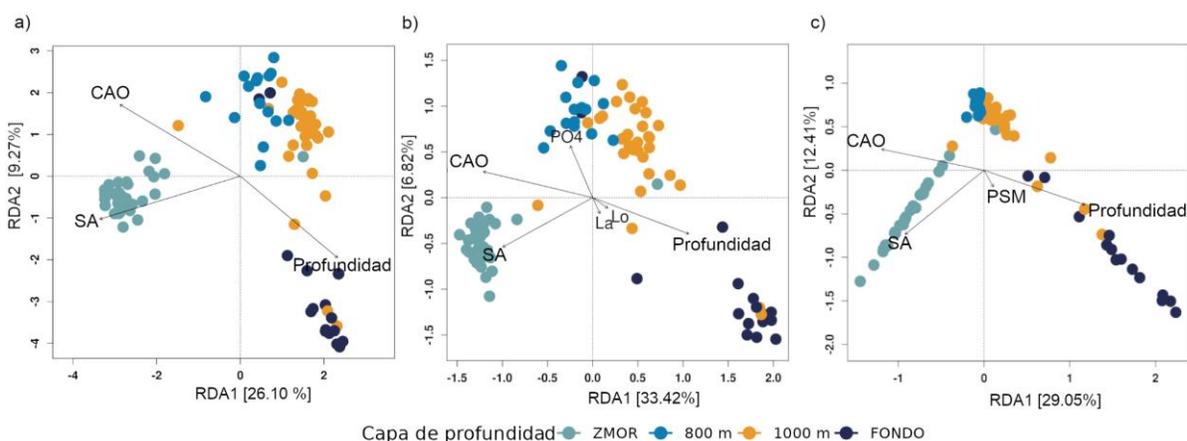


Figura 10. Diagrama de ordenación del análisis db-RDA para las comunidades de bacterias y arqueas por profundidades en correlación con variables ambientales. Para a) Todos los ASVs b) ASVs de biosfera dominantes y c) ASVs de biosfera rara. Las variables ambientales mostradas fueron seleccionadas tras un análisis de multicolinealidad ($VIF < 5$). CAO (consumo aparente de oxígeno); SA (salinidad absoluta); PSM (profundidad del suelo marino).

3.1.7 *Análisis de co-ocurrencias*

A fin de profundizar en la comprensión de los factores que influyen en la estructura de las comunidades microbianas en las diversas profundidades, se construyeron redes de asociación microbiana fundamentadas en relaciones significativas de co-ocurrencia entre los ASVs. Para la selección de estos ASVs dentro de cada red, se implementó un filtro que consideró la prevalencia, estableciendo un umbral de 0.7 para las redes correspondientes a las profundidades de ZMOR, 800 m y 1000 m, y un umbral de 0.6 para la profundidad de FONDO. Este último ajuste se justificó por la baja prevalencia observada en la profundidad más profunda, lo que llevó a la decisión de suavizar el umbral.

Los resultados con dichos umbrales fueron 371 ASVs en la red de ZMOR, 270 para la red de 800 m, 313 para la red de 1000 m y 290 para la profundidad de FONDO; cifras que resultaron ser adecuadas para la construcción de redes de un tamaño suficiente para permitir comparaciones significativas. Consistentemente, todos los ASVs seleccionados en cada red se integraron como componentes de las mismas.

Curiosamente, no se detectó una correlación entre el tamaño inicial de los datos, medido como el número de ASVs por profundidad (ver Tabla 3), y la interconexión, representada por la proporción de bordes a nodos. Los valores obtenidos fueron de 2.98 para la red de ZMOR, 2.61 para la red de 800 m, 2.66 para la red de 1000 m y 2.50 para FONDO. Estos resultados, similares entre sí, sugieren que, a pesar de que las profundidades ZMOR y 1000 m mostraron casi el doble de ASVs en comparación con las profundidades de 800 m y FONDO, una alta prevalencia no necesariamente se traduce en una alta co-ocurrencia. De este modo, se concluyó que la estructura de cada red fue el resultado de propiedades intrínsecas de cada profundidad, y no de un sesgo sistemático por muestreo.

Es importante señalar que se desarrollaron redes considerando tanto la prevalencia como la abundancia relativa de los ASVs, así como en función de la abundancia relativa únicamente. En ambos enfoques se observó la presencia de sesgo por muestreo (datos no mostrados), lo que llevó a la decisión de centrar la selección de ASVs exclusivamente por prevalencia.

Por otra parte, se determinó la distribución de bordes positivos y negativos en la red de cada profundidad, o lo que es lo mismo, las correlaciones positivas y negativas, el resultado fue que en promedio el 18% de

las correlaciones entre los ASVs son negativas y el 82% positivas (Figura 11), sin observarse ningún patrón a lo largo de la columna de agua.

A continuación, se procedió al cálculo de diversas características topológicas de las redes, cuyos resultados se presentan en la Figura 12. En este análisis, se evidenció que los valores de *degree* y *betweenness* son significativamente más altos en la red correspondiente a la ZMOR en comparación con las redes de aguas más profundas. De hecho, las redes de 1000 m y FONDO no mostraron diferencias significativas con ambos parámetros. Este hallazgo sugiere que las comunidades microbianas en la ZMOR tienen un mayor número de conexiones directas entre ciertos ASVs, así como una dependencia más elevada, dado que nodos con un alto valor de *betweenness centrality* indican una mayor implicación en la conexión de estos con otros nodos.

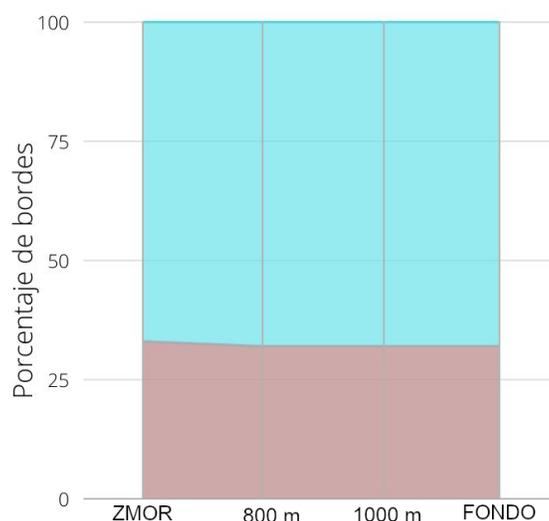


Figura 11. Distribución de las correlaciones positivas y negativas de las comunidades de bacterias y arqueas por profundidad. El área turquesa corresponde al porcentaje de correlaciones positivas y el área rosa a las negativas.

Sin embargo, es notable que, a pesar de que la ZMOR presentó los valores más altos de *degree* y *betweenness*, también exhibió los valores más bajos de *closeness centrality*. Este resultado implica que, aunque la ZMOR se configura como una red rica en conexiones y ASVs potencialmente esenciales, se encuentra menos interconectada en comparación con las otras redes de zonas más profundas. Estos resultados sugieren una complejidad y dinámica particular en la red de la ZMOR, indicando una estructura que puede favorecer interacciones directas entre ASVs específicos a pesar de su menor proximidad a otros nodos en la red.

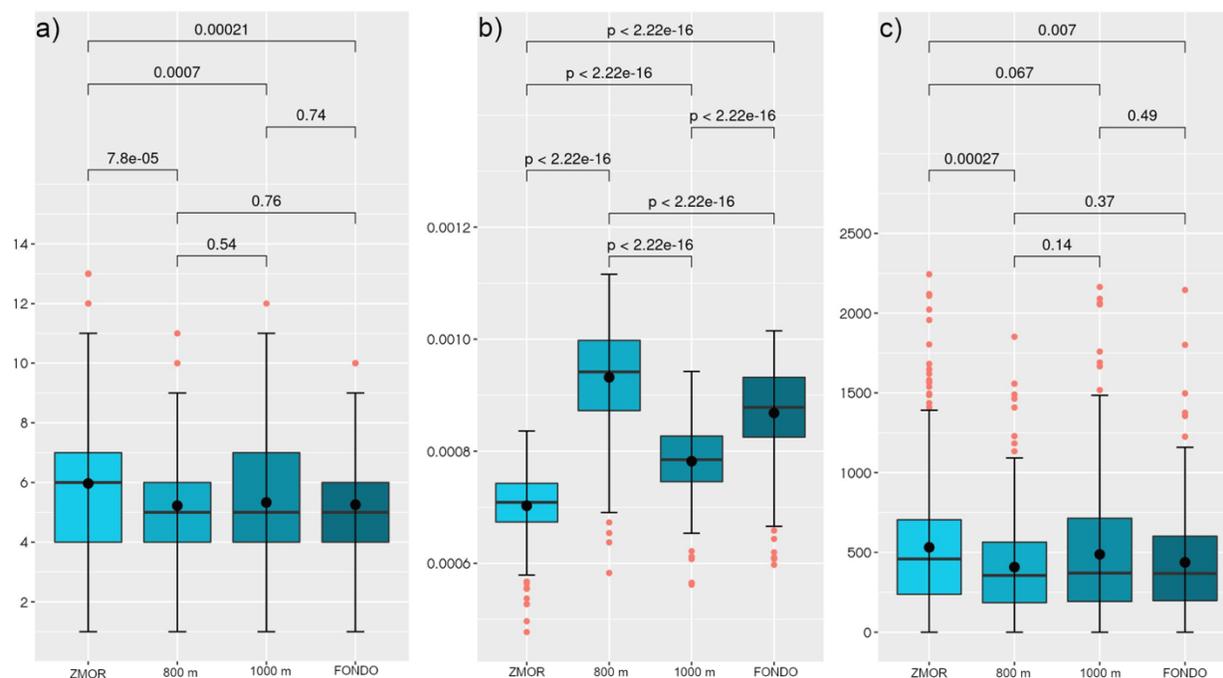


Figura 12. Características topológicas de las redes. a) *Degree*, b) *closeness centrality* y c) *betweenness centrality*. Los puntos rojos indican estaciones con valores atípicos que están más allá de 1.5 veces el rango intercuartil. Los valores en la parte superior de los diagramas de caja corresponden a los valores de p ajustados con Holm de las comparaciones por pares a través del Wilson test entre las profundidades.

3.1.8 La comunidad de arqueas

La comunidad de arqueas estuvo compuesta por 836 ASVs, distribuidos en 6 filos, 7 clases, 12 órdenes, 11 familias y 7 géneros. El filo predominante fue el de los Thaumarchaeota, seguido por Thermoplasmata y Nanoarchaeota (Figura 13 Y Figura 14). A nivel de género, solo el 4% de los ASVs (33 de 836) pudieron ser asignados, mientras que el 96% restante se clasificó en niveles taxonómicos superiores, resaltando la prevalencia de filotipos no identificados (Figura 14).

Dentro del filo Thaumarchaeota, los filotipos de la clase Nitrososphaeria, orden Nitropumilales y familia Nitrosopumilaceae fueron predominantes en las diversas profundidades (Figura 15). Sin embargo, diferentes géneros variaron con la profundidad. Los géneros *Candidatus Nitrosopelagicus* y *Candidatus Nitrosopumilus* mostraron mayor prevalencia en las profundidades ZMOR y FONDO, mientras que *Candidatus Nitrosotenuis* en 1000 m y FONDO; Y *Candidatus Nitrososphaeria* estuvo presente únicamente en la estación TS1-800 m.

En el filo Nanoarchaeota, todos los filotipos se asignaron al orden Woesearchaeales (Figura 13 Y Figura 14), aumentando su abundancia con la profundidad. Como fue el caso de filotipos de las familias GW2011_GWC1_47_15, SCGC AAA011-D5 y SCGC AAA286-E23. Dentro de este filo, solo se pudo asignar un género, *AR20* que se encontró únicamente en la estación H46-1000 m.

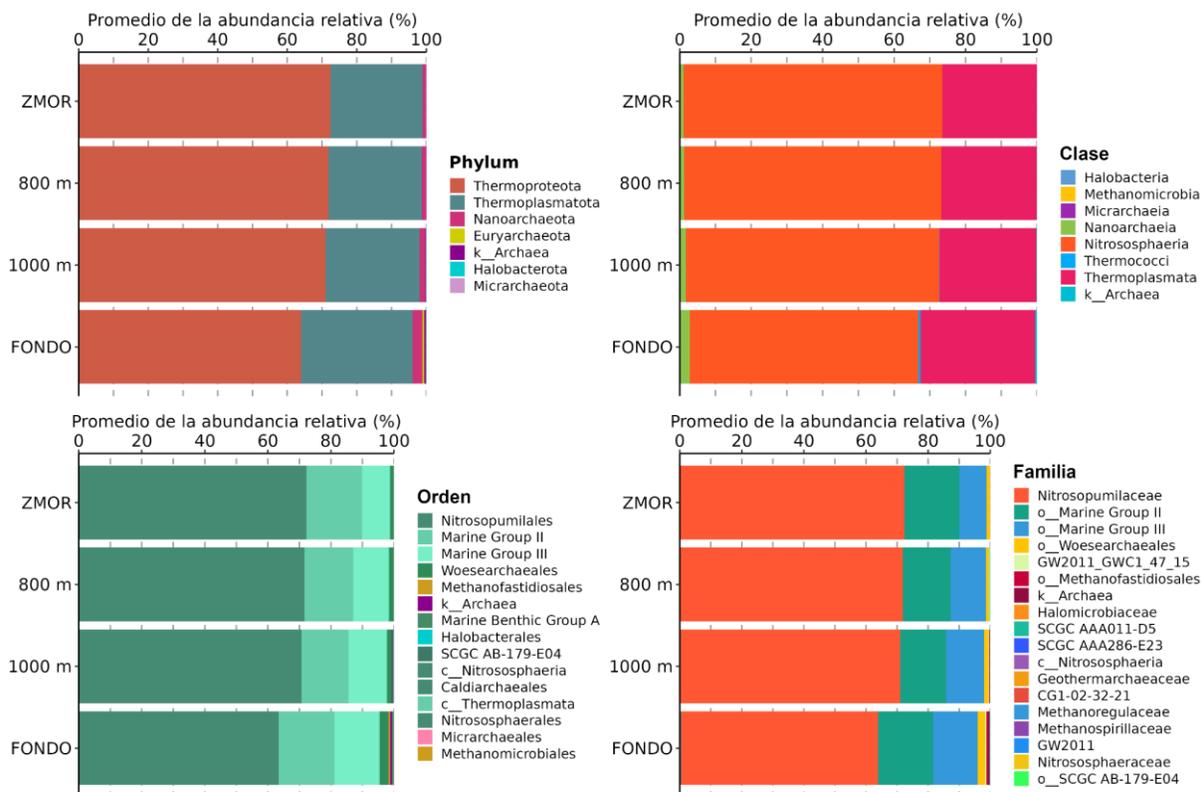


Figura 13. Gráfico de barras del promedio de las abundancias relativas de los filos, clases, órdenes y familias de arqueas en las distintas profundidades.

Para el filo Euryarchaeota, los *Methanofastidiosales* se encontraron predominantemente en las profundidades (1000 m y FONDO), mostrando especial abundancia en las estaciones D27, D30 y F37 en FONDO (Figura 14). Mientras que en el filo Halobacterota, los géneros *Methanoregula* y *Methanospirillum*, aparecieron exclusivamente en la estación H46-1000 m, y *g_(f_Halomicrobiaceae)* (que corresponde a filotipos que solo pudieron ser asignados hasta familia Halomicrobiaceae) estuvieron presentes en numerosas estaciones de la zona batipelágica, con notable presencia a 1000 m.

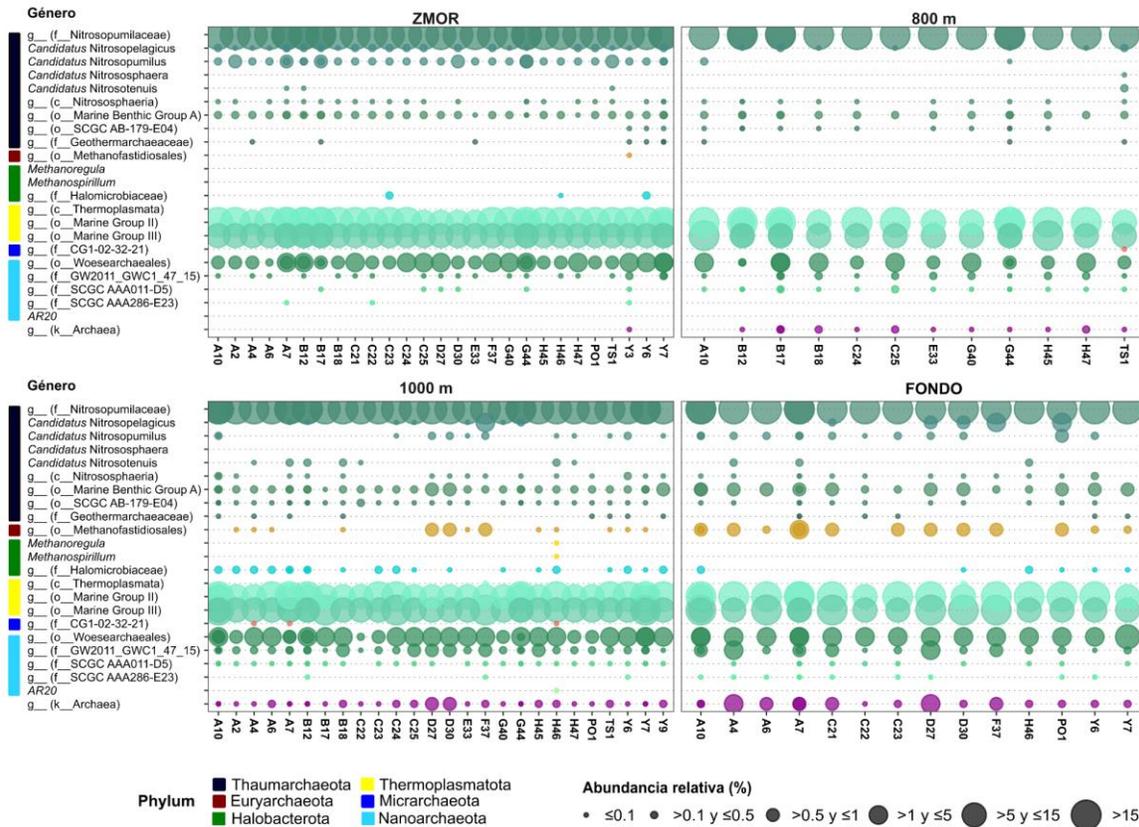


Figura 14. Gráfico de burbujas de la abundancia relativa de los principales géneros de arqueas por estaciones y profundidades. El tamaño de cada burbuja representa la abundancia relativa (%) de cada género por estación. Las barras de colores del lado izquierdo de la figura representan los filos al que pertenecen cada género.

En el filo Micrarchaeota, se observó únicamente la familia CG1-02-32-21 en las estaciones TS1 a 800 m, y A4, A7 y H46 a 1000 m de profundidad. Curiosamente, los filotipos asignados hasta el nivel dominio (*Archaea*) incrementaron con la profundidad, alcanzando hasta un 5 % de abundancia relativa en FONDO (Figura 14).

Por otro lado, se observó una influencia significativa de la profundidad en la riqueza y diversidad de arqueas (Figura 15). La ZMOR presentó una riqueza taxonómica mayor a FONDO ($P \leq 0.001$). En cuanto a la diversidad, se evidenció homogeneidad en los valores de Shannon a lo largo del gradiente vertical, pero un aumento significativo del índice de Simpson en FONDO frente al resto de las profundidades ($P \leq 0.001$).

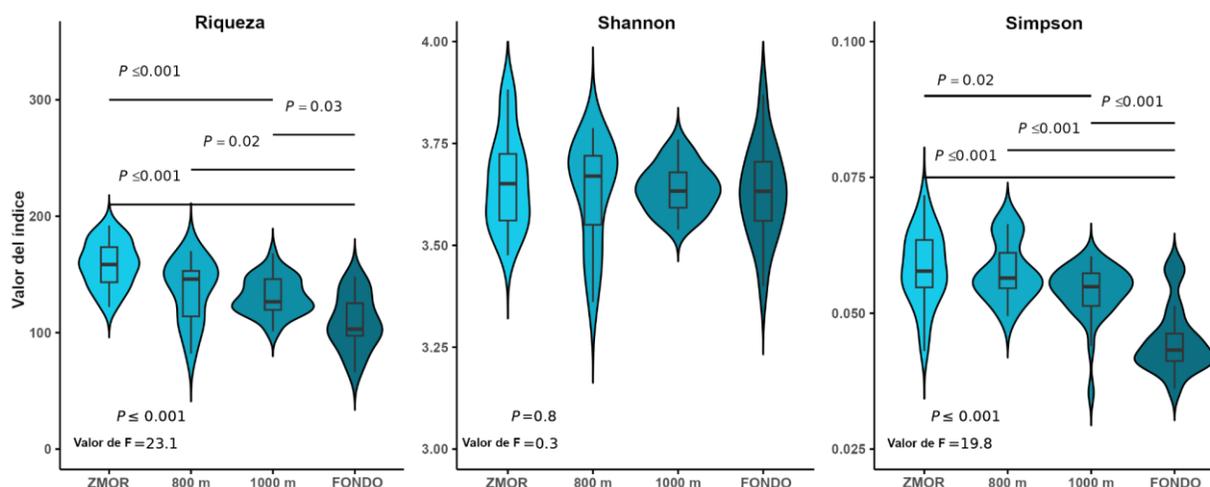


Figura 15. Índices de diversidad alfa de la comunidad de arqueas en las diferentes profundidades. La mediana está representada por la línea central en el diagrama de caja y bigotes; los valores de F y p corresponden a la prueba de ANOVA, mientras que los valores de p en la parte superior indican diferencias significativas entre comparaciones por pares de profundidades (prueba HSD de Tukey, $p < 0,05$).

Finalmente, se evaluó la abundancia diferencial de filotipos de arqueas (con 10% de prevalencia) entre pares de profundidades con la herramienta ALDEx2 (Figura 16). Se incluyeron 293 filotipos (50.6%) de 579 en el par ZMOR-800 m, 231 filotipos (41.9%) de 551 en el par 800 m-1000 m, y 234 filotipos (39.7%) de 590 en el par 1000 m-FONDO. La comparación entre ZMOR y 800 m mostró un amplio rango de *effect size* (-3.63 a 3.69), involucrando 105 filotipos, lo que sugiere variaciones significativas en la abundancia de estos. En contraste, la comparación entre 800 m-1000 m presentó un rango más estrecho (-2.18 a 2.69), con solo 17 filotipos implicados, lo que indica diferencias más pequeñas en comparación con ZMOR-800 m. Y la comparación 1000 m-FONDO presentó el rango más pequeño (-1.55 a 1.50), involucrando 53 filotipos, lo que sugiere alteraciones sutiles en la composición de arqueas entre estas profundidades.

Los filotipos pertenecientes a la familia Nitrosopumilaceae fueron los más representados en todas las comparaciones (con *effect size* > 1; Figura 16 y Tabla 11). El par ZMOR-800m presentó 67 filotipos de esta familia, el par 800-1000 m mostró 13 filotipos y el par 1000 m-FONDO 28 filotipos, con proporciones similares entre cada par. Además, los filotipos de esta familia fueron diferentes entre los tres pares de profundidades analizadas.

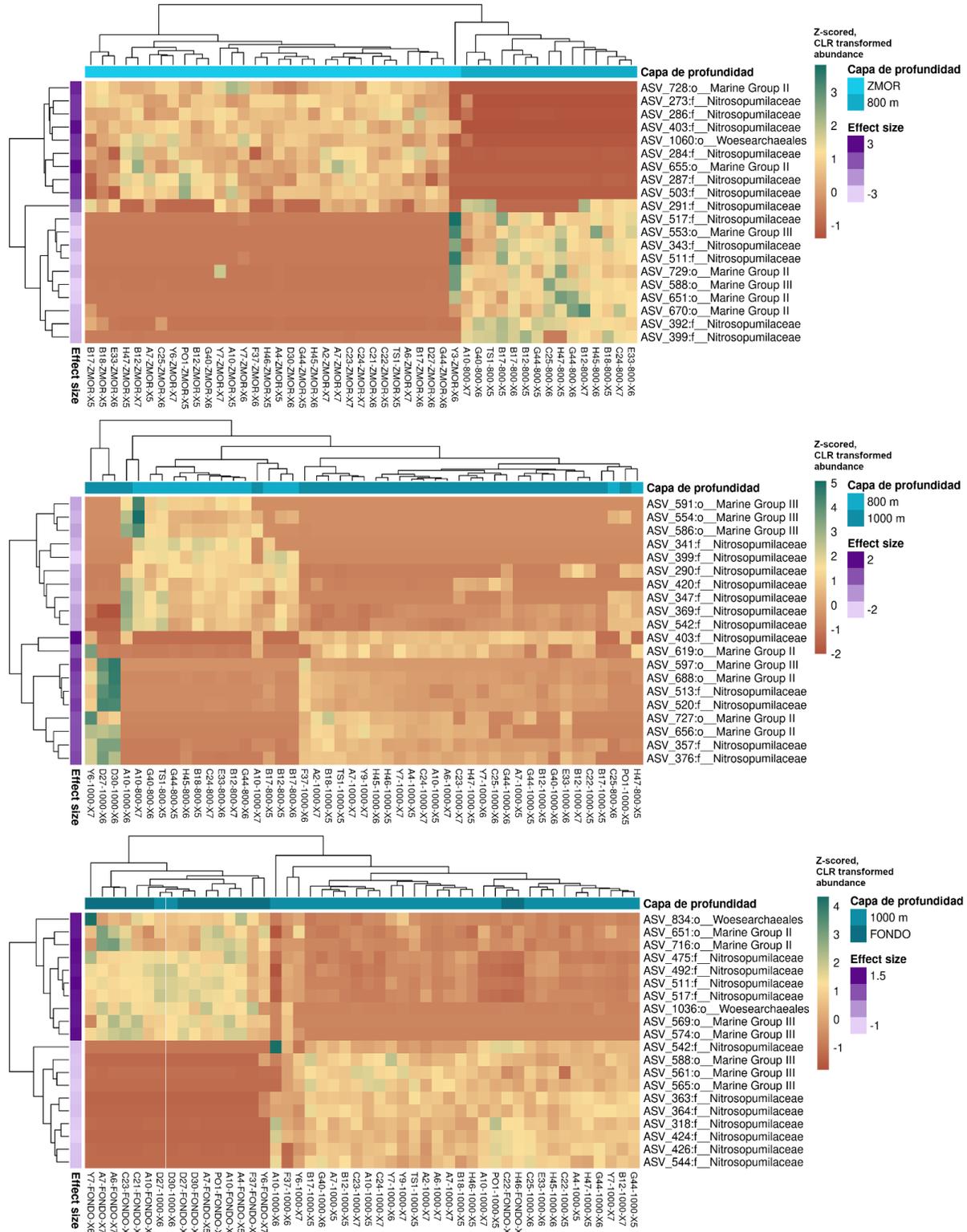


Figura 16. Mapa de calor mostrando los 20 filotipos de arqueas con los mayores valores de *effect size* para cada par de profundidades, analizados con ALDEx2. Las filas representan los 20 filotipos con valores de *effect size* ≥ 1 , y las columnas (estaciones) las cuales se ordenaron mediante agrupamiento jerárquico. Los valores del *effect size* se indican mediante una escala de color morado en las barras laterales derechas, mientras que las abundancias se representan como Z-scored, CLR Transformed Abundance.

Los filotipos de los órdenes Marine Group II y III fueron los siguientes más abundantes entre las comparaciones (Figura 16 y Tabla 11). En el par ZMOR-800 m, se identificaron 17 filotipos del Grupo II y 14 del Grupo III. En el par 800-1000 m, los números fueron menores, con 4 filotipos del Grupo II y 3 del Grupo III. Y en la comparación entre 1000 m y FONDO, se registraron 11 filotipos del Grupo II y 9 del Grupo III. Al igual que los filotipos de la familia Nitrosopumilaceae, la mayoría de estos también resultaron ser diferentes en las distintas comparaciones.

En el caso de los filotipos del orden Woesearchaeales, el par 1000 m-FONDO presentó el mayor número de filotipos diferencialmente abundantes, con un total de 5, siendo más abundantes en FONDO (Figura 16 y Tabla 11). En la comparación ZMOR-800 m, se identificaron 4 filotipos, con mayor abundancia en ZMOR mientras que el par 800-1000 m no presentó filotipos diferencialmente abundantes para este orden. Por otro lado, se encontró un único ASV del género Methanofastidiosales diferencialmente abundante, este fue entre las profundidades de 1000 m y FONDO, siendo este más abundante en FONDO.

Finalmente, se identificaron 11 estaciones (Y3-ZMOR-X6, C25-800-X6, A10-1000 m-X6, A10-1000 m-X7, D30-1000 m-X6, D27-1000 m-X6, F37-1000 m-X6, H47-800-X5, Y6-1000 m-X7, H46-FONDO-X5 y C22-FONDO-X5) que no fueron agrupadas con sus respectivas profundidades (Figura 16). Este resultado es consistente con el análisis NMDS (Figura 7), en el que 10 de estas 11 estaciones (con la excepción de A10-1000 m-X7) se encontraron dentro del área de dispersión de datos de otras profundidades o en el borde de su propia región de dispersión.

3.1.9 *Potencial funcional de las comunidades*

Se realizó un análisis de abundancia diferencial mediante ALDEx2 de las rutas metabólicas predichas con PICRUST2, comparando por pares las distintas profundidades (ZMOR-800 m, ZMOR-1000 m, ZMOR-FONDO, 800 m-1000 m, 800 m-FONDO y 1000 m-FONDO). Los resultados con la prueba de Kruskal-Wallis indicaron que solo un conjunto reducido de vías metabólicas mostró diferencias significativas asociadas a la profundidad ($P \leq 0.001$; Tabla 12). Las variaciones más relevantes se vieron en las comparaciones entre la ZMOR y las profundidades (1000 m y FONDO) y 800 m con FONDO, destacando especialmente el par ZMOR-FONDO, que registró 24 rutas metabólicas diferencialmente abundantes (Figura 17).

En el análisis de estas 24 rutas, se observó que cuatro estaciones de FONDO (F37-FONDO-X5, H46-FONDO-X6, C22-FONDO-X6, Y7-FONDO-X5) se agruparon con las muestras de ZMOR, mientras que la estación A10-ZMOR-X5 mostró afinidad funcional con el FONDO. La metanogénesis a partir de H₂ y CO₂ presentó mayor abundancia en estaciones de FONDO, particularmente en A7-FONDO-X5 y X7 y en A10-FONDO-X5. En ZMOR, la ruta de osmoprotección: Ciclo de S-adenosil-L-metionina I se destacó en A6-ZMOR-X7, C1-ZMOR-X6, mientras que la supervía de degradación de sulfolactato mostró abundancias elevadas en B12-ZMOR-X7, D27-ZMOR-X6, Y6-ZMOR-X7, C22-ZMOR-X5, C23-ZMOR-X7 y C24-ZMOR-X7. Las rutas de degradación de compuestos aromáticos (catecol a 2-oxopent-4-enoato II, ruta meta de catecol II y 2-aminofenol) fueron prominentes en la estación A4-X5, tanto en ZMOR como en FONDO. Adicionalmente, las estaciones G40-ZMOR-X6 y G44-ZMOR-X5 registraron altas abundancias en rutas de degradación de L-triptófano a 2-amino-3-carboximuconato semialdehído, L-triptófano XII, 2-aminofenol y 2-nitrobenzoato I. Finalmente, la reducción asimilatoria de nitrato VI mostró valores elevados en la estación PO1-FONDO-X5, a pesar de su asociación predominante con ZMOR.

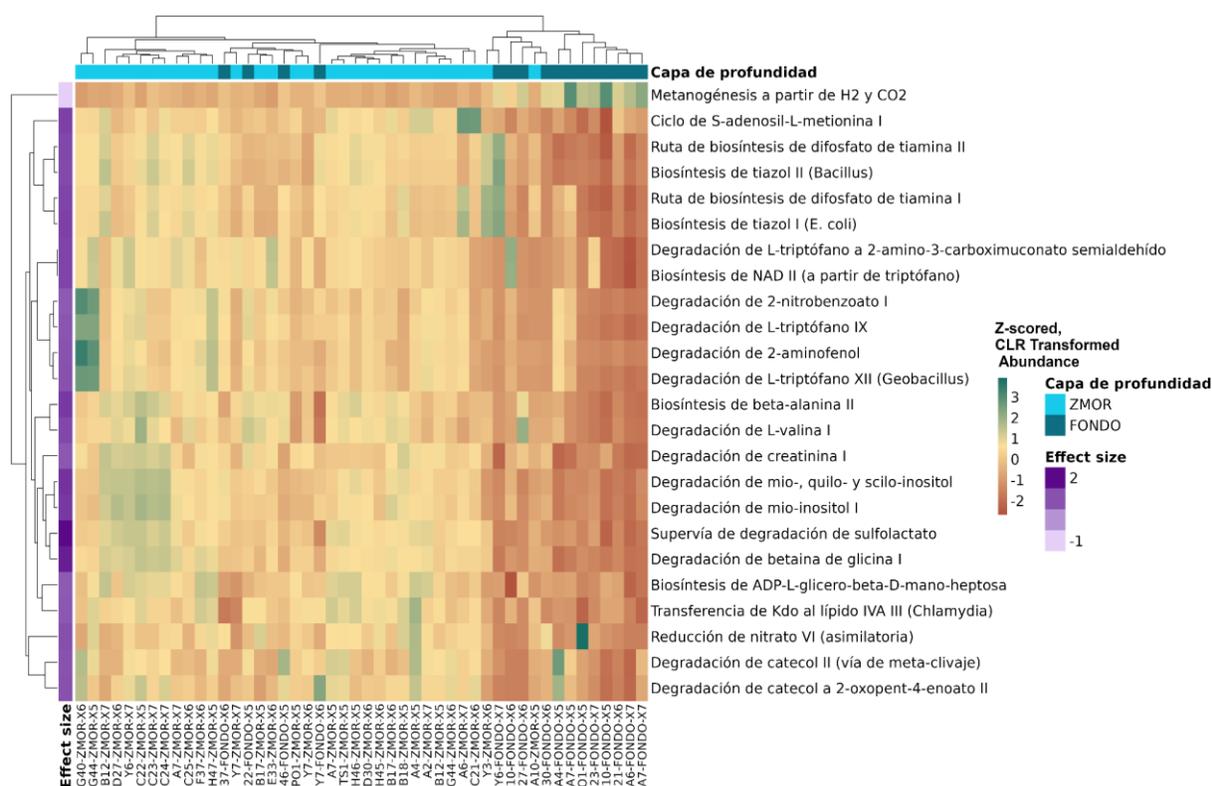


Figura 17. Mapa de calor de las 24 rutas metabólicas predichas con PICRUST2 que son significativa y diferencialmente abundantes entre las profundidades ZMOR y FONDO. Las filas representan las 24 rutas con valores de *effect size* ≥ 1 , y las columnas (estaciones) las cuales se ordenaron mediante agrupamiento jerárquico. Los valores del *effect size* se indican mediante una escala de color morado en las barras laterales derechas, mientras que las abundancias se representan como *Z-scored, CLR Transformed Abundance*.

3.2 Subtema 2: De la caracterización del potencial funcional de genomas de bacterias y arqueas partir de MAGs

3.2.1 Selección de las muestras

Siguiendo los criterios establecidos en la sección anterior, se seleccionaron 18 de las 95 muestras analizadas mediante *metabarcoding*. Estas muestras se corresponden a seis estaciones de muestreo (tres por estación), distribuidas en distintas regiones del GdM (Figura 18).

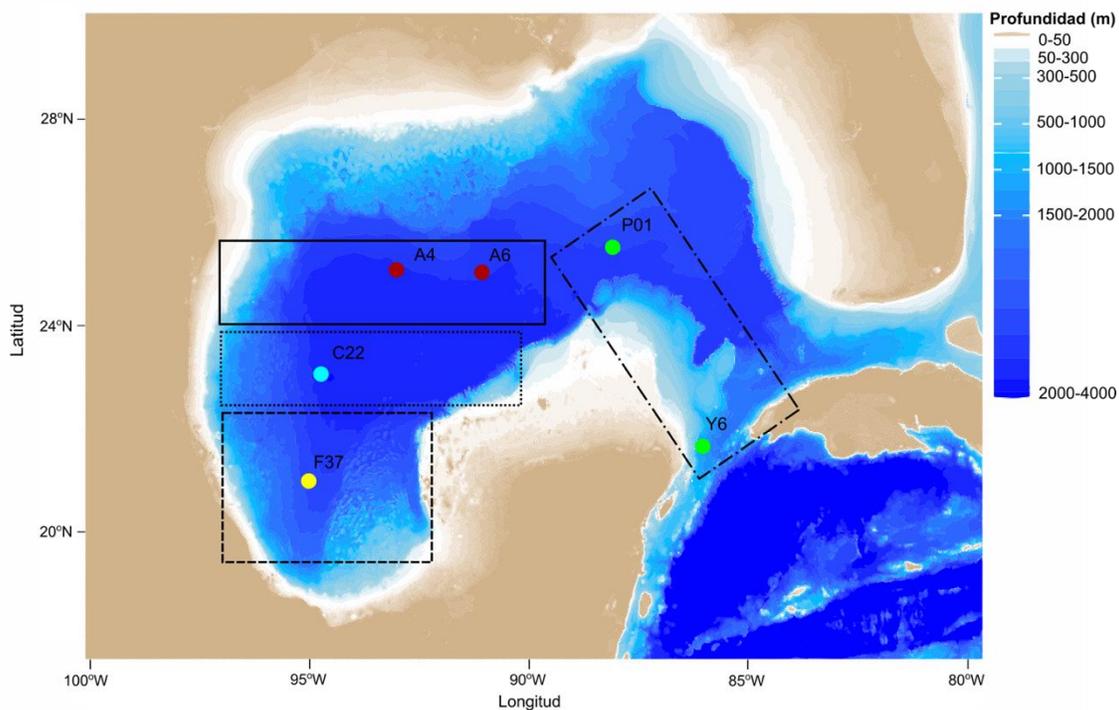


Figura 18. Mapa de las estaciones seleccionadas para ser analizadas por medio de *shotgun*. Las estaciones encerradas en un rectángulo con borde de líneas de guiones y puntos corresponden a aquellas ubicadas en región corriente de lazo, con borde de línea sólida son estaciones en la región norte, línea punteada en la región centro, y las del sur con borde de líneas de guiones.

3.2.2 Secuenciación y análisis de secuencias

Las librerías de secuenciación se prepararon con un mínimo de 20 ng por librería. En la Tabla 5 se

presentan las concentraciones de ADN obtenidas por cada muestra.

Tabla 5. Concentraciones de ADN por estación y profundidad.

Estación	Capa de profundidad	ADN (ng/μL)	Total (ng)
A4-X5	ZMOR	6.80	1132
	100 m	1.40	186
	FONDO	6.10	962
A6-X7	ZMOR	9.05	905
	1000 m	1.95	195
	FONDO	6.05	605
C22-X5	ZMOR	8.60	1408
	1000 m	4.80	770
	FONDO	2.80	424
F37-X6	ZMOR	7.05	1142
	1000 m	9.60	1588
	FONDO	7.60	1219
PO1-X5	ZMOR	2.34	131
	1000 m	1.84	103
	FONDO	0.72	35
Y6-X7	ZMOR	5.95	595
	1000 m	3.00	300
	FONDO	4.86	972

3.2.3 Control de calidad de las lecturas

El número total de lecturas de las 18 muestras sin procesar fue de 1 309 457 485 (para más detalles verTabla 13), lo que equivale a 190.8 GB de datos. Después del filtrado, se retuvieron 1 199 463 056 lecturas, mostrando una reducción del 8,4%. La muestra F37-ZMOR fue la que presentó la mayor cantidad de lecturas iniciales (129 248 614) y la que conservó el mayor número de lecturas tras el filtrado (117 732 563). Mientras que la muestra con menor cantidad de lecturas iniciales fue A6-1000 (15 460 488) y retuvo 14 237 563 lecturas tras el filtrado (Figura 19).

Después del segundo paso de control, recorte de las lecturas utilizando la herramienta Trimmomatic, se retuvieron alrededor del 80% de las lecturas, con un porcentaje de retención que varió entre el 76.2% y el 82%. La muestra Y6-ZMOR fue la que presentó el mayor porcentaje de retención (82%), mientras que la muestra A6-ZMOR fue la que presentó el menor (76.2%) (Figura 19).

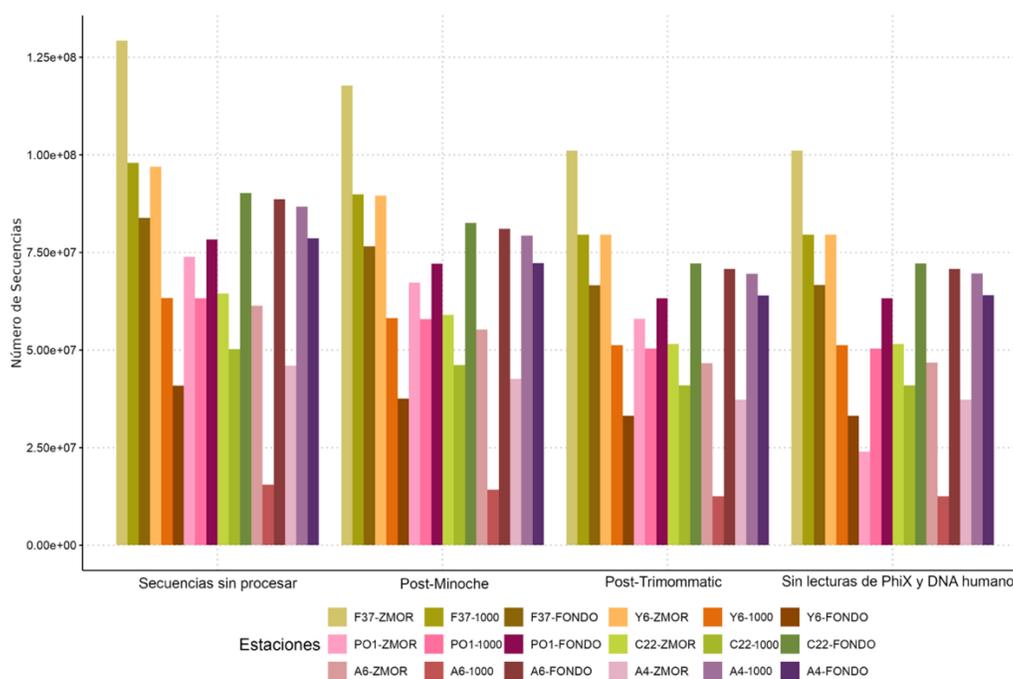


Figura 19. Número de lecturas retenidas en cada paso de control de calidad para las 18 muestras analizadas.

El tercer y último paso del control de calidad, fue la eliminación de posibles lecturas correspondientes al bacteriófago PhiX y a ADN humano, se obtuvo un porcentaje de retención que varió entre el 76% y el 82%.

La muestra Y6-ZMOR fue la que presentó el mayor porcentaje de retención (82%), mientras que la muestra A6-ZMOR fue la que presentó el menor (76%) (Figura 19)

La mayor reducción de lecturas se observó en el paso de Trimmomatic, que eliminó alrededor del 20% de las lecturas iniciales, el filtrado con Minoche redujo las lecturas en un 8.9%, mientras que la eliminación de secuencias de PhiX y ADN humano provocó una reducción mínima del 1%. La muestra F37-ZMOR fue la que presentó la mayor cantidad de lecturas iniciales y también la que conservó el mayor número de lecturas al final del proceso de control de calidad. Y las muestras A6-1000 y A6-ZMOR fueron las que perdieron mayor porcentaje de lecturas durante el proceso de filtrado (Figura 19).

3.2.4 *Ensamblaje de las Lecturas*

Tras la evaluación inicial con QUAST, se determinó que MEGAHIT ofrecía un rendimiento comparable a SPAdes, pero con una mayor eficiencia computacional. Por lo tanto, se procedió a optimizar el ensamblaje utilizando exclusivamente MEGAHIT. Se evaluaron tres configuraciones diferentes de MEGAHIT con un mínimo de largo de los contigs de 1000 pb solo con una parte de las muestras C22-1000 y A4-1000. Los resultados de esta prueba permitieron identificar la configuración óptima de MEGAHIT que mejor equilibraba la calidad del ensamblaje y la eficiencia computacional para cada muestra. A continuación, se presentan los resultados detallados de estas pruebas de optimización para C22-1000 y A4-1000 (Figura 20).

Para la muestra A4-1000, la configuración sensitive produjo el mayor número total de contigs (aproximadamente 194 000), seguida por large (183 000) y default (164 000). Sin embargo, en términos de contigs largos ($\geq 50\ 000$ bp), la configuración default generó ligeramente más (118) que sensitive (124) y large (81). La longitud total del ensamblaje fue mayor con la configuración sensitive (423 Mb), seguida por large (389 Mb) y default (372 Mb) (Figura 20).

En el caso de la muestra C22-1000, se observó una tendencia similar en el número total de contigs, con sensitive produciendo la mayor cantidad (112 000), seguida por large (108 000) y default (97 000). Para los contigs largos, sensitive generó 272, large 250, y default 276. La longitud total del ensamblaje siguió el mismo patrón que en A4-1000, con sensitive produciendo el ensamblaje más largo (282 Mb), seguido por large (265 Mb) y default (255 Mb).

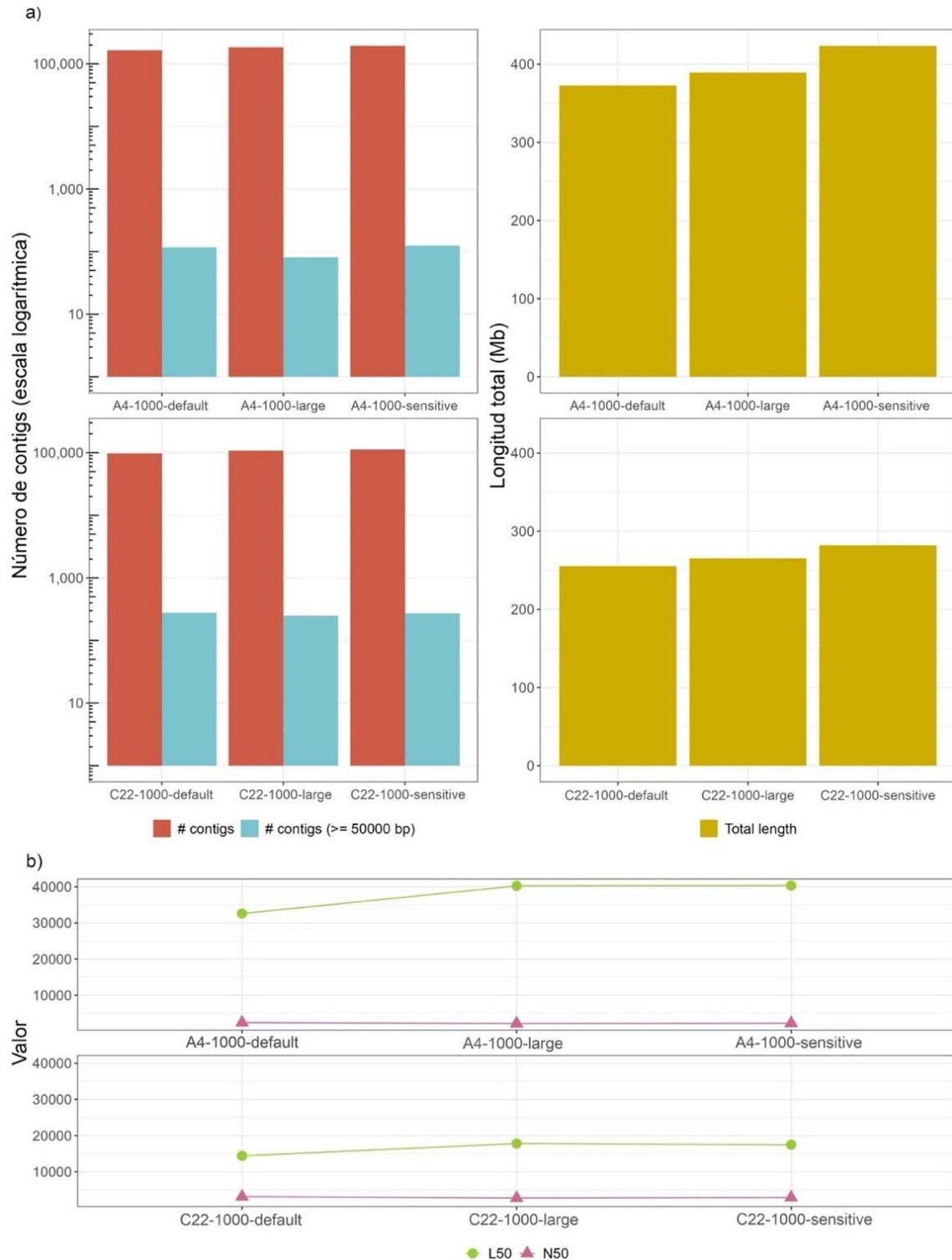


Figura 20. Métricas de ensamblaje metagenómico para las muestras A4-1000 y C22-1000 utilizando diferentes configuraciones de MEGAHIT. a) El panel izquierdo muestra el número total de contigs (barras rojas) y el número de contigs $\geq 50,000$ bp (barras azules) en escala logarítmica. El panel derecho presenta la longitud total del ensamblaje en megabases (Mb). b) Valores de N50 (verde) y L50 (rosa) para cada configuración de ensamblaje. Las configuraciones de MEGAHIT evaluadas fueron: default, large y sensitive.

3.2.5 Mapeo de lecturas a contigs

Tras el ensamblaje metagenómico utilizando la configuración *sensitive* de MEGAHIT, se procedió al mapeo de las lecturas originales contra los contigs generados para cada muestra. Este proceso se realizó utilizando Bowtie2 (Tabla 6).

Tabla 6. Tasas de alineamiento de lecturas a contigs para las 18 muestras analizadas

Estación	Tasa de alineamiento (%)
A4-ZMOR	43.56
A4-1000	70.30
A4-FONDO	62.48
A6-ZMOR	35.09
A6-1000	48.70
A6-FONDO	70.59
C22-ZMOR	59.12
C22-1000	66.05
C22-FONDO	70.48
F37-ZMOR	64.50
F37-1000	55.53
F37-FONDO	52.12
PO1-ZMOR	58.77
PO1-1000	75.79
PO1-FONDO	63.15
Y6-ZMOR	58.54
Y6-1000	61.50
Y6-FONDO	59.37

Los resultados del mapeo mostraron una variabilidad considerable entre las diferentes estaciones y profundidades muestreadas. Las tasas de alineamiento oscilaron entre el 35.09% y el 75.79%, lo que indica diferencias significativas en la eficacia del ensamblaje entre las muestras.

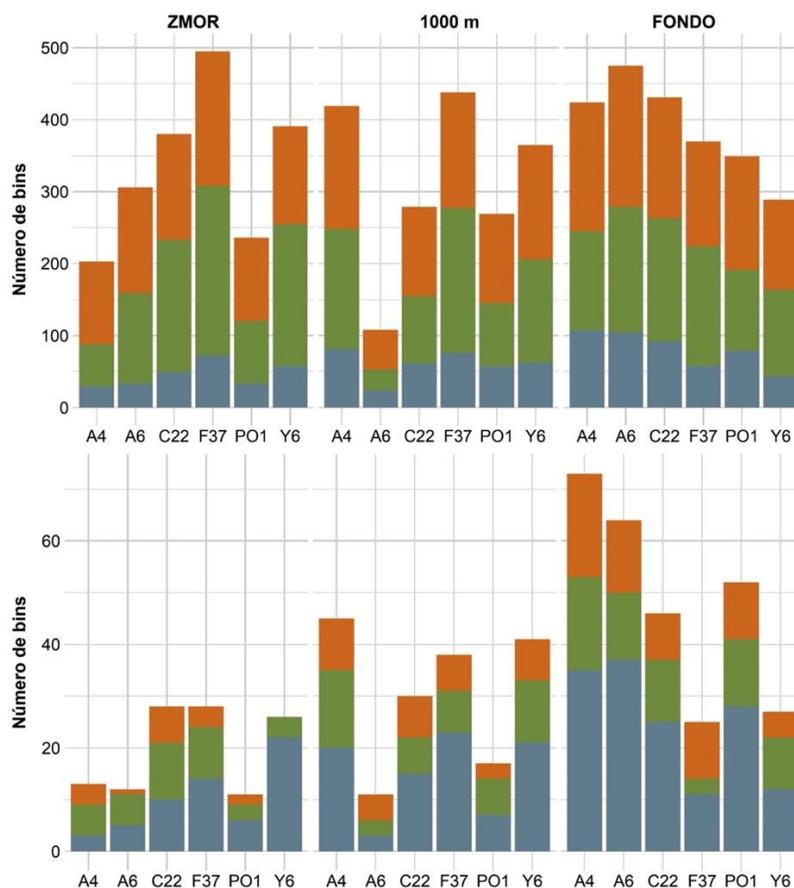
La estación PO1-1000 presentó la tasa de alineamiento más alta con un 75.79%, seguida de cerca por las muestras de FONDO de las estaciones A6 (70.59%), C22 (70.48%) y A4 (70.3%). Estas altas tasas de alineamiento sugieren que el ensamblaje fue particularmente efectivo para estas muestras, capturando una gran proporción de la diversidad genómica presente. Por otro lado, las tasas de alineamiento más bajas se observaron en la profundidad ZMOR de la estación A6 (35.09%) y A4 (43.56%). Estas tasas relativamente bajas podrían indicar una mayor complejidad en estas comunidades microbianas.

Es interesante notar que, en general, las muestras de FONDO tendieron a mostrar tasas de alineamiento más altas (rango de 52.12% a 70.59%) en comparación con las muestras de la ZMOR (rango de 35.09% a 64.5%).

3.2.6 *Binning y consolidación y evaluación de los bins*

Los resultados del *binning* indicaron diferencias en el número de *bins* generados por herramienta. En promedio, CONCOCT produjo 145.2 *bins*, MaxBin2 134.8 *bins*, y MetaBAT2 62.4 *bins* por muestra. La muestra que presentó el mayor número de *bins* fue F37 en la profundidad ZMOR, con 236 *bins* generados

por MaxBin2, mientras que la muestra con el menor número fue A6 en la profundidad de 1000 m, con 24



bins generados por MetaBAT2 (

Figura 21). CONCOCT y MaxBin2 generaron respectivamente 132.7% y 116.0% más *bins* que MetaBAT2.

Las diferencias por profundidad fueron también notables. Las profundidades 1000 m y FONDO mostraron un mayor número de *bins* en comparación con la profundidad ZMOR. En promedio, presentaron 132.3 y 141.1 *bins* respectivamente, mientras que la profundidad ZMOR presentó 114 *bins*, lo que representa una diferencia de 16.1% y 23.8% respectivamente. También se observaron diferencias considerables entre las muestras. La muestra A6 en la profundidad de FONDO mostró el mayor número de *bins* para CONCOCT (196), mientras que F37 en la profundidad de ZMOR tuvo el mayor número para MaxBin2 (236), siendo estos los valores máximos observados en todo el conjunto de datos.

La consolidación con Das Tool resultó en una reducción drástica del número de *bins* (

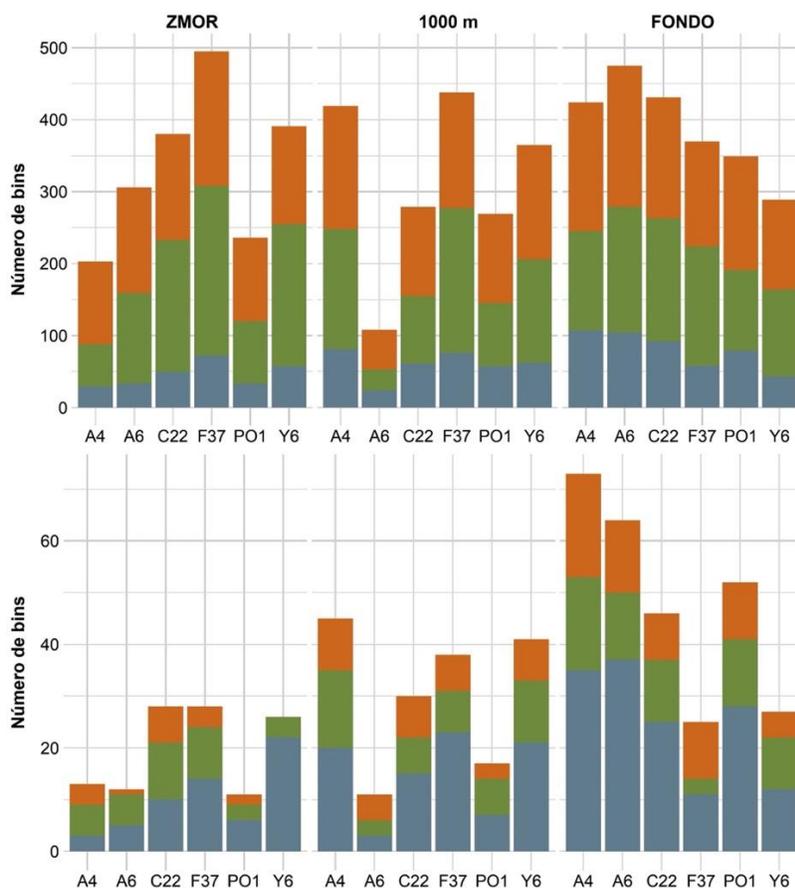


Figura 21). En promedio, el número de *bins* se redujo en un 91.7% para CONCOCT, 90.6% para MaxBin2, y 68.9% para MetaBAT2. Revelando que MetaBAT2 conservó entonces un mayor porcentaje de sus *bins* originales (31.1% en promedio) en comparación con CONCOCT (8.3%) y MaxBin2 (9.4%) después del proceso de consolidación. Esta diferencia en la retención de *bins* fue consistente entre las diferentes estaciones y profundidades.

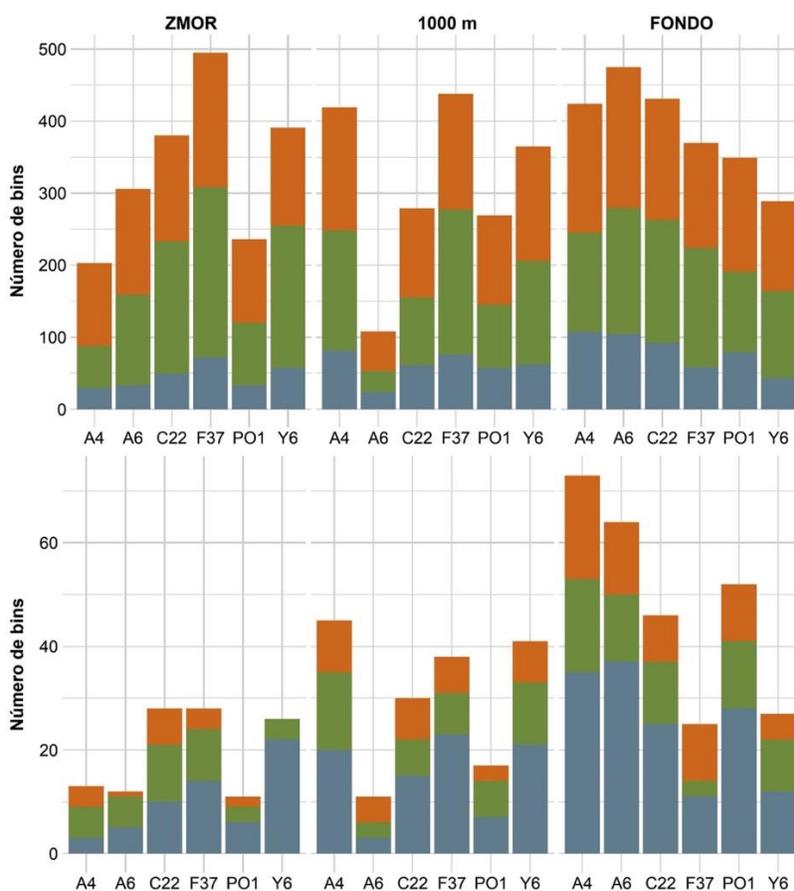


Figura 21. Distribución comparativa de *bins* generados por CONCOCT, MaxBin2 y MetaBAT2 antes (panel de arriba) y después de la consolidación con Das Tool (panel de abajo), por muestra y profundidad. Las barras color naranja representan los *bins* generados por la herramienta CONCOCT, verde MaxBin2, y azul MetaBAT2.

Por otro lado, la Figura 22 muestra la distribución del número de *bins* recuperados a través de las diferentes estaciones de muestreo y profundidades después del paso de consolidación. La estación A4 presentó el mayor número total de *bins* (130), con una distribución notable de 72 *bins* en la profundidad de FONDO, 45 en 1000 m y 13 en la ZMOR. En contraste, la estación PO1 presentó el menor número total de *bins* (80), con una distribución de 52 en FONDO, 17 en 1000 m y 11 en ZMOR. Y la estación C22 presentó una distribución más equilibrada entre las profundidades, con 46 *bins* en FONDO, 30 en 1000 m y 28 en ZMOR.

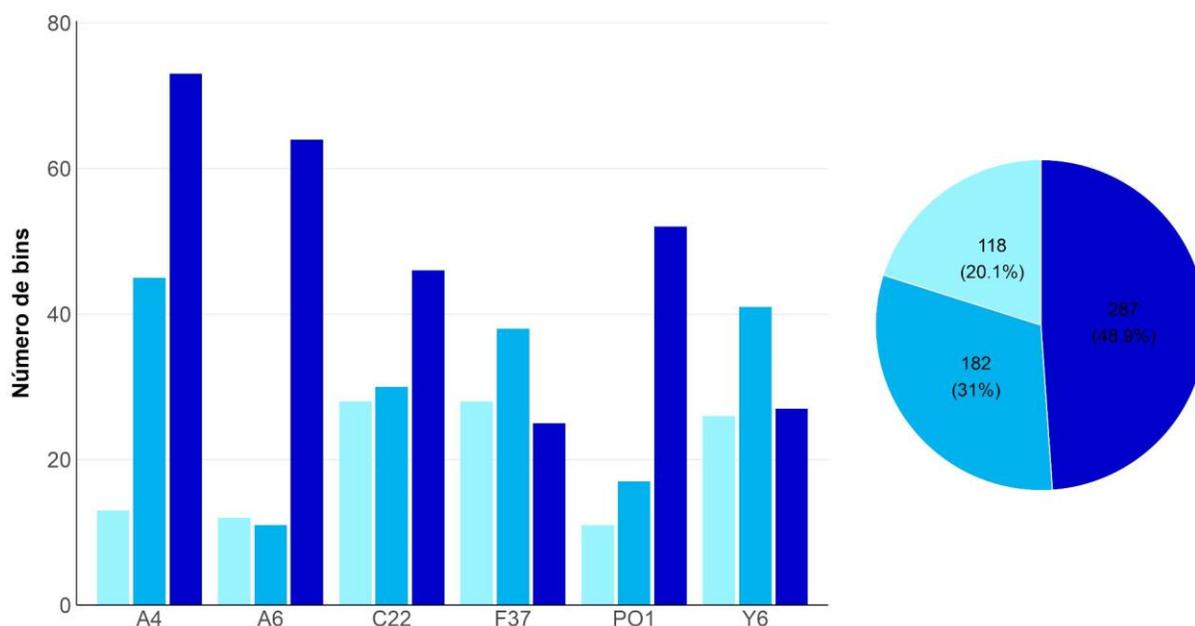


Figura 22. Distribución de *bins* recuperados luego del proceso de consolidación con Das Tool. A la izquierda se muestra el número de *bins* por estación de muestreo y profundidad. Derecha, distribución total de *bins* por profundidad. Los *bins* correspondientes a la profundidad ZMOR están representadas en color azul claro, 1000 m en azul medio, y FONDO azul oscuro.

El análisis de completitud, contaminación y tamaño estimado de los genomas por profundidad reveló patrones distintivos en la calidad y características de los *bins* (Figura 23).

En términos de completitud, se observó una tendencia a obtener *bins* más completos en las profundidades de 1000 m y FONDO en comparación con la profundidad de ZMOR. La mediana fue más alta para los *bins* de FONDO (89.01%), seguida por 1000 m (88.84%), mientras que ZMOR mostró la mediana más baja (83.23%) y una mayor variabilidad. Además, 152 *bins* (25.76%) mostraron tener valores altos de completitud (>90%), 307 *bins* (52.03%) presentaron completitud entre 50-90%, y 131 *bins* (22.20%) una completitud <50%, encontrándose los de >90% principalmente en 1000 m y FONDO. Por ejemplo, en A4-1000 se recuperaron varios *bins* con completitud superior al 95%, incluyendo uno con 100% (concoct_bin.43_sub). Esta distribución muestra que más de tres cuartas partes de los *bins* recuperados (77.80%) tenían una completitud superior al 50%.

La contaminación de los *bins* también mostró variaciones entre las profundidades. Los *bins* de la profundidad de FONDO presentaron niveles más bajos de contaminación, con una mediana de 4.51% y una distribución más compacta. En contraste, los *bins* de la ZMOR que mostraron una mayor variabilidad

en los niveles de contaminación, con una mediana de 7.37%. Mientras que la profundidad de 1000 m mostró una mediana intermedia de 5.29%. Del total de 590 *bins*, 418 *bins* (70.85%) presentaron baja contaminación (<5%), 137 *bins* (23.22%) mostraron contaminación entre 5-10%, y 35 *bins* (5.93%) tuvieron una contaminación >10%. Los *bins* con baja contaminación se distribuyeron entre todas las profundidades, pero fueron particularmente frecuentes en las muestras de 1000 m y FONDO. Por ejemplo, en la muestra A4-1000, se recuperó el *bin* metabat_bin.37 con una contaminación de solo 0.16%. Esta distribución muestra que la gran mayoría de los *bins* recuperados (94.07%) tenían una contaminación inferior al 10%, lo que indica una buena calidad general en términos de pureza de los genomas recuperados.

En cuanto al tamaño de los genomas, se observaron diferencias sutiles pero notables entre las profundidades. Los *bins* de FONDO tendieron a tener tamaños ligeramente más grandes, con una mediana de 2.53 Mb y un rango intercuartílico más amplio. Los *bins* de 1000 m mostraron una distribución de tamaños intermedia con una mediana de 2.45 Mb, mientras que los de ZMOR presentaron los tamaños de genoma más pequeños en promedio, con una mediana de 2.44 Mb, aunque con una considerable variabilidad. De los 590 *bins*, 103 *bins* (17.46%) fueron pequeños (<1 Mb), 378 *bins* (64.07%) presentaron tamaños entre 1-4 Mb, y 109 *bins* (18.47%) tuvieron un mayor tamaño >4 Mb. El *bin* más pequeño fue maxbin_bin.28 de la muestra Y6-1000, con solo 239 768 bp, mientras que el más grande fue concoct_bin.33_sub de la muestra F37-FONDO, con 10294017 bp. Esta distribución indica que la mayoría de los *bins* recuperados (82.54%) tenían tamaños superiores a 1 Mb, sugiriendo la recuperación de genomas de bacterias relativamente completos en la mayoría de los casos.

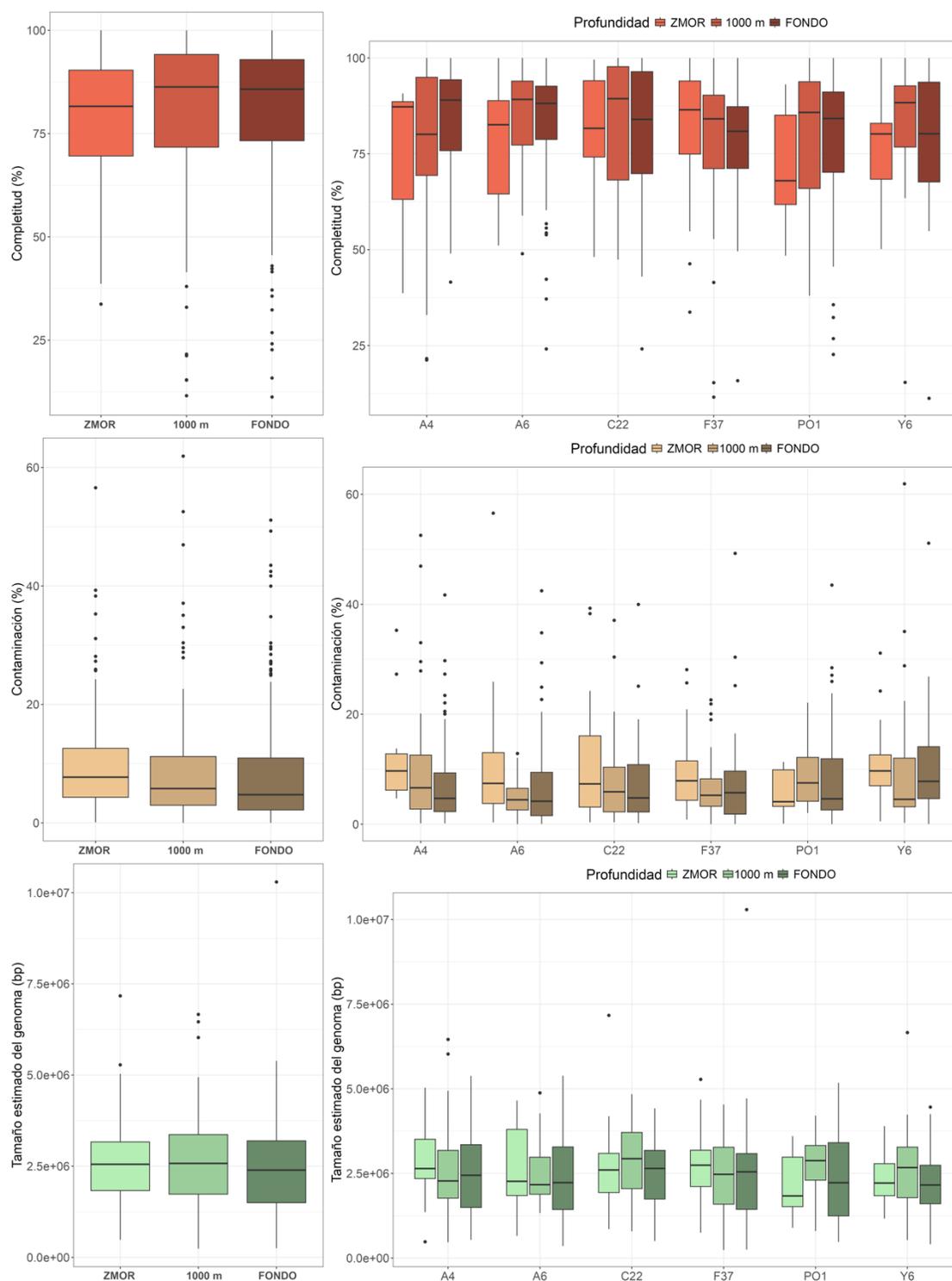


Figura 23. Distribución de las características de los *bins* recuperados del proceso de consolidación con Das Tool y evaluados con CheckM2. A la izquierda se encuentran los diagramas de caja que muestran la distribución de la completitud, contaminación y tamaño de los genomas por profundidad; y a la derecha por muestra. Las líneas horizontales dentro de las cajas representan las medianas, las cajas abarcan los cuartiles 25 y 75, y las barras de error se extienden hasta los valores mínimo y máximo, excluyendo los valores atípicos.

3.2.7 Asignación taxonómica

Al comparar el número total de *bins* antes y después de aplicar los criterios de control de calidad (> 85% de completitud y \leq 10% de contaminación), se observó una notable reducción del 62.7% de los *bins*, pasando de 587 a 219. En la Figura 24 se muestra la distribución de los mismos por muestra y profundidad. A nivel de muestra la mayor reducción en el número de *bins* se produjo en la estación Y6 a nivel de ZMOR (un 88.5% menos) pasando de 26 a 3 *bins*, mientras que la menor reducción ocurrió en la estación A6 a 1000 m, con una disminución del 45.5%, pues pasó de 11 a 6 *bins*.

Mientras que a nivel de profundidad de ZMOR experimentó la menor reducción, con un 27.1% menos de *bins*, pasando de 118 a 86 *bins*. En contraste, la profundidad de 1000 m mostró la mayor reducción, con una disminución del 68.7%, de 182 a 57. Y la profundidad de FONDO, mostró una reducción intermedia del 32.8%, de 287 a 193.

La asignación taxonómica realizada sobre los 219 MAGs reveló una distribución predominantemente de bacterias, con un 90% del total, mientras que el 10% restante se clasificó dentro del dominio Archaea (Figura 25A). Los filos de bacterias dominantes fueron los *Pseudomonadales* (Figura 25B), que representaron casi la mitad de los MAGs (41.8%), seguidos por *Chloroflexota* (10.3%) y *Marinisomatota* (8.4%). En cuanto a las arqueas, los filos predominantes fueron *Thermoplasmatota*, con el 6.6% de los MAGs, y *Thermoproteota*, con el 1.1%.

Se utilizó el nivel de género como la unidad taxonómica más baja en el análisis, dado que no todos los MAGs pudieron ser clasificados a nivel de especie. De los 219 MAGs, 193 (88%) fueron asignados a nivel de especie (dando un total de 68 especies diferentes). Mientras que todos los MAGs fueron asignados a nivel de género. Los MAGs no asignados a nivel de especie pertenecían principalmente a los filos *Pseudomonadota* y *Bdellovibrionota*.

Se identificaron un total de 67 géneros diferentes (Figura 25C). En la ZMOR se encontraron 20 géneros, a los 1000 m de profundidad 38 géneros, y FONDO 56. De todos los géneros, sólo 11 estuvieron presentes en las tres profundidades estudiadas. Entre ellos se destacan *Arctic96AD-7* y *Qipengyuania*, cada uno con un total de 12 MAGs, lo que representó el 22% del total de los MAGs; y *Alteromonas* y *UBA1138*, con 11 MAGs cada uno, comprendiendo el 20% del total, el resto de los MAGs mostraron menor representación.

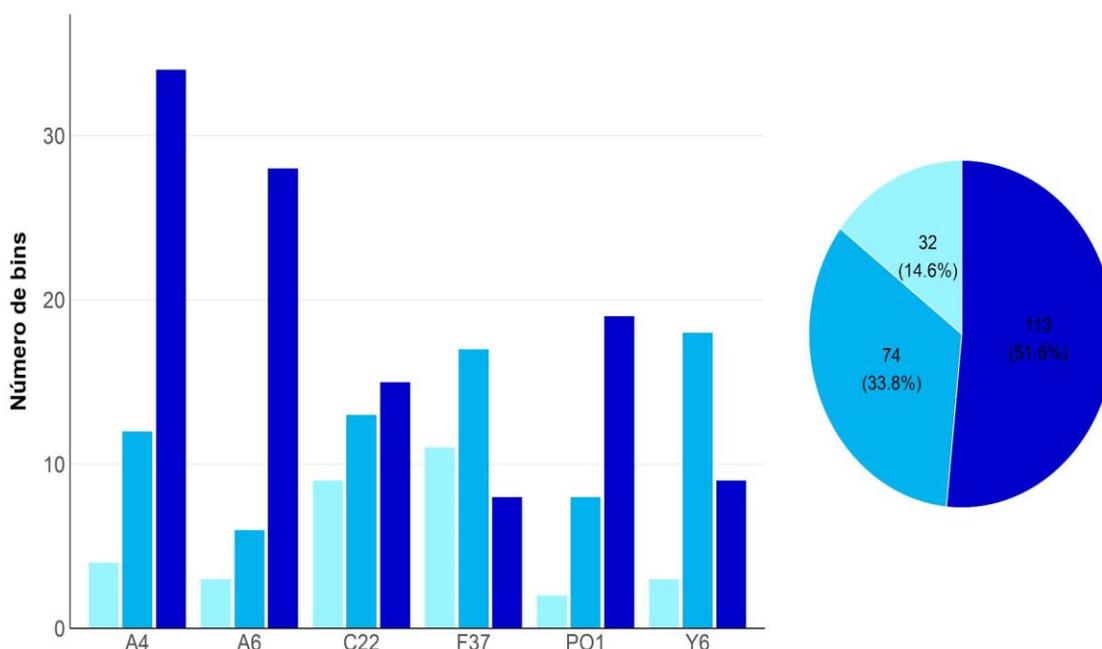


Figura 24. Distribución de los *bins* con $\geq 85\%$ de completitud y como máximo 10% de contaminación. A la izquierda se muestra el número de *bins* por estación de muestreo y profundidad. Derecha, distribución total de *bins* por profundidad. Los *bins* correspondientes a la profundidad de la ZMOR están representadas en color azul claro, 1000 m en azul medio, y FONDO azul oscuro.

En la ZMOR, predominaron las *Alteromonas*, *Arctic96AD-7*, *Qipengyuania* y *UBA2110*, lo que en conjunto representan el 28.2% del total de géneros en esta profundidad. A 1000 m, los más abundantes fueron *Alteromonas*, *UBA1138*, *Arctic96AD-7*, *Qipengyuania*, *Thalassarchaeum* y *UBA9410*, comprendiendo el 34.2% de los géneros en esta profundidad. En la profundidad de FONDO, fueron *Arctic96AD-7*, *Qipengyuania*, *UBA1123* y *UBA1138*, correspondiendo al 22.5% de los géneros identificados en esta profundidad.

Adicionalmente, se identificaron géneros de bacterias relacionados con la degradación de hidrocarburos (Figura 25 y Tabla 13). Algunos se encontraron en las tres profundidades, como *Alteromonas* (con las especies *A. macleodii* y *A. sp002729795*), *Acinetobacter* (especies: *A. johnsonii* y *A. junii*), e *Idiomarina* (especies: *I. aquatica* e *I. baltica*). Otros géneros se obtuvieron solo en dos profundidades, en particular a 1000 m y FONDO, siendo estos *Alcanivorax* (con la especie *A. sp900107995*), *Oleibacter* (especie: *O. sp002331105*) y *Psychrobacter* (con las especies *P. pacificensis* y *P. sp002332095*); y en ZMOR y a 1000 m, *Pseudoalteromonas* (con la especie *P. lipolytica_A*). Otros géneros se identificaron exclusivamente en una profundidad, *Marinobacter* (especie: *M. hydrocarbonoclasticus*) en la ZMOR, y *Phenylobacterium* y *Pseudomonas* (especie: *P. sp002719545*) en la profundidad de FONDO.

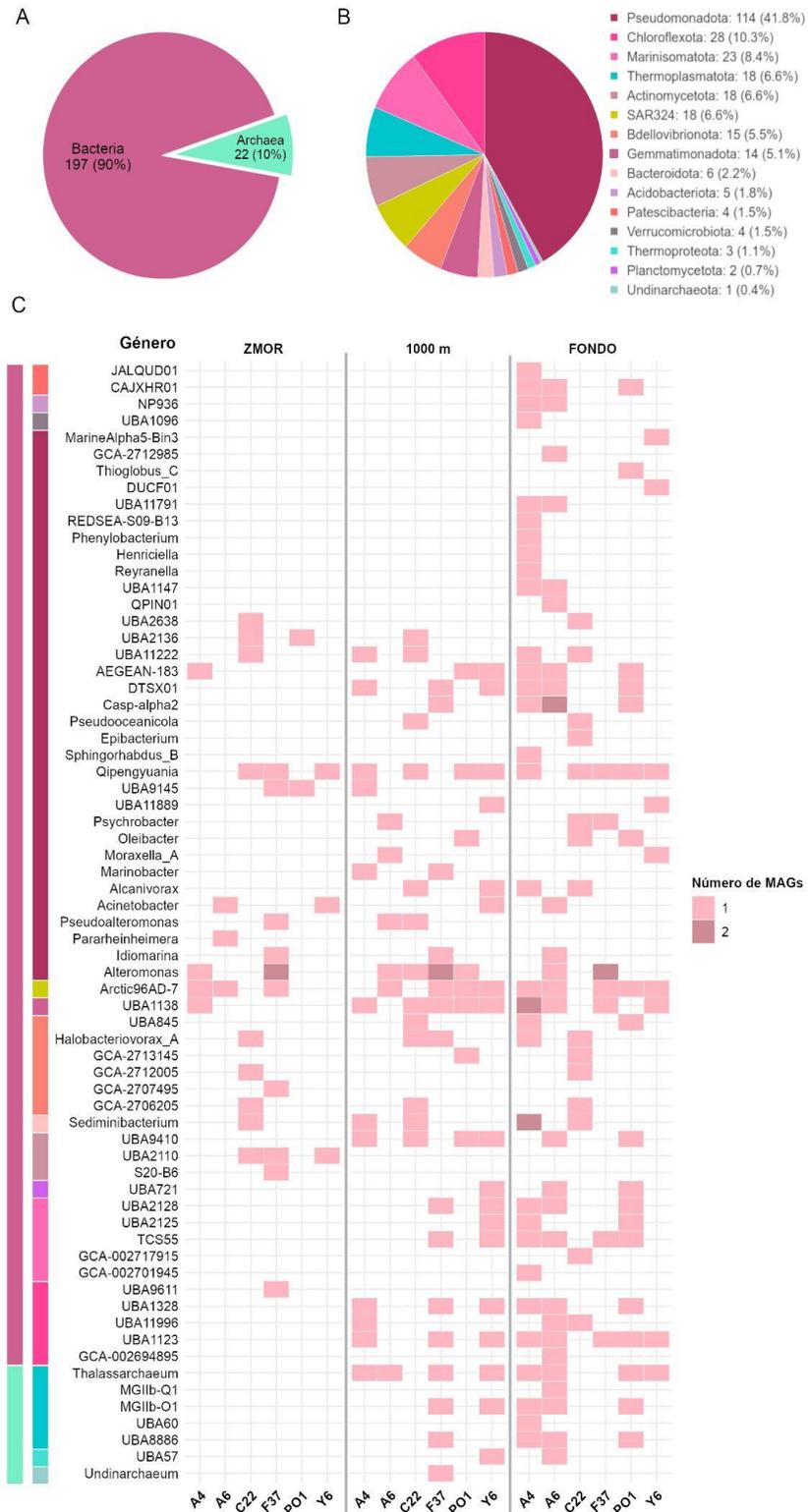


Figura 25. Clasificación taxonómica de los MAGs. A) Diagrama de pastel que muestra la distribución de los MAGs a nivel de dominio y B) a nivel de filo. C) Mapa de calor que representa el número de MAGs a nivel de género en las diferentes estaciones y profundidades. Los colores de las barras laterales del mapa de calor representan los dominios y filos a los que pertenecen los diferentes géneros, conservando la misma nomenclatura colorimétrica representada en los diagramas de pastel.

Por otro lado, la mayoría de los géneros de arqueas (cuatro de siete) se obtuvieron tanto en la profundidad de 1000 m como en la de FONDO (Figura 25). Estos fueron, del filo *Thermoplasmatota*: *Thalassarchaeum* (con la especie *T. sp002507125*), *MGI1b-O1* (especie *MGI1b-O1 sp002498525*), *UBA8886* (especie *UBA8886 sp003193815*) y, del filo *Thermoproteota*, *UBA57* (especie *UBA57 sp002494565*). Los tres géneros restantes fueron detectados en una sola profundidad: *Undinarchaeum* (especie *U. marinum*), único representante del filo *Undinarchaeota*, fue detectado a 1000 m, mientras que *MGI1b-Q1* y *UBA60* (especie *UBA60 sp002503395*) se identificaron exclusivamente en la profundidad de FONDO.

La asignación taxonómica mediante Kraken2/Bracken de las secuencias de alta calidad mostró que, en todas las profundidades y estaciones, las comunidades de bacterias predominaron sobre las de arqueas (Figura 26). En total, se identificaron 279 órdenes. Entre los órdenes de bacterias más abundantes, destacaron Alteromonadales, Pseudomonadales, Bacillales, Flavobacteriales, Oceanospirillales y Rhodobacterales, los cuales presentaron diferentes porcentajes en cada muestra. Los Alteromonadales fueron el grupo más abundante en varias estaciones, llegando a superar el 70% de la abundancia relativa en la estación PO1-1000. Pseudomonadales, por su parte, presentó su mayor abundancia en la estación C22-1000 (9.3%). Bacillales fue más abundante en C22-ZMOR (9.2%), Flavobacteriales en C22-ZMOR (6.8%), Oceanospirillales en C22-FONDO (17.4%), y Rhodobacterales en C22-1000 (2.5%). Las arqueas, por su parte, mostraron una abundancia mucho menor en comparación; los Nitrosopumilales, el grupo de arqueas más abundante, presentaron abundancias inferiores al 4%. Otros grupos que destacaron por su alta abundancia relativa en estaciones específicas fueron los Synechococcales en F37-FONDO (8.7%) y los Moraxellales en A6-1000 y FONDO, con porcentajes del 20% y 16%, respectivamente.

La distribución vertical de los órdenes mostró que algunos grupos, como Alteromonadales y Pseudomonadales, incrementaron su abundancia relativa con la profundidad. Por el contrario, otros, como Nitrosopumilales, registraron una disminución a medida que aumentaba la profundidad. Finalmente, es importante destacar que una fracción significativa de secuencias no pudo ser clasificada (datos no mostrados), alcanzando en algunos casos entre el 35% y el 60% del total. Esto probablemente refleja limitaciones en las bases de datos de referencia disponibles para la clasificación taxonómica.

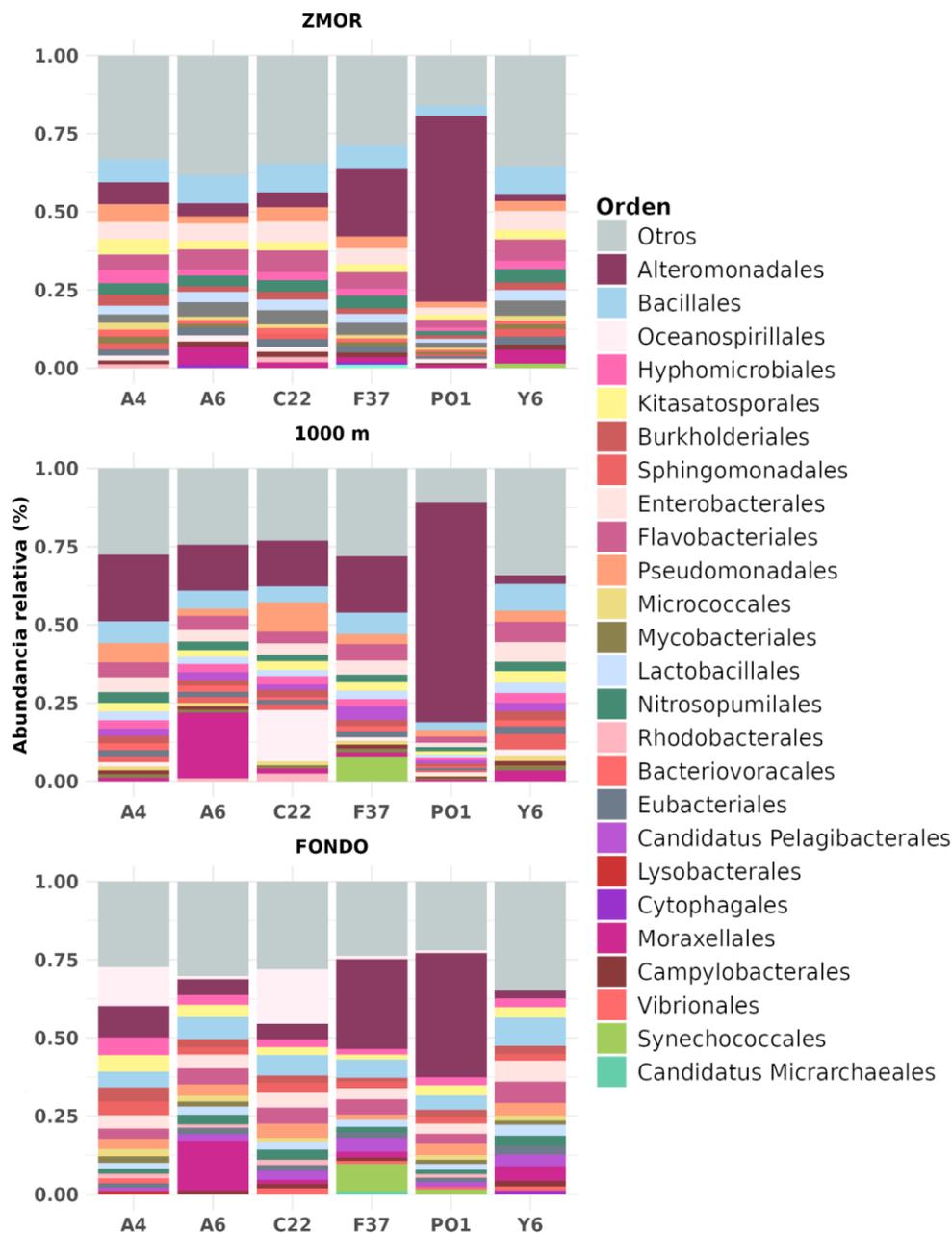


Figura 26. Gráfica de barras de la abundancia relativa de los 20 órdenes de bacterias y arqueas más abundantes por estación. “Otros” indica los órdenes con menor abundancia.

3.2.8 Anotación funcional y análisis de ciclos biogeoquímicos

La Figura 27 muestra la distribución de la presencia/ausencia de genes clave que conforman 22 funciones metabólicas en los 219 MAGs. Para facilitar la lectura de la figura los genes asignados para cada función se resumieron en la Tabla 7, manteniendo el mismo orden que en la Figura 27.

Las principales funciones metabólicas identificadas estaban relacionadas con la utilización de aminoácidos, el metabolismo C1, reducción de clorito, fermentación de etanol, degradación de ácidos grasos, utilización de compuestos halogenados, reducción de metales, hidratación de nitrilos, respiración aeróbica (Complejo IV de la fosforilación oxidativa), reducción de perclorato, reducción de seleniato y utilización de urea, y estos estuvieron representadas por todos los genes clave tomando en cuenta todos los MAGs de las tres profundidades (ZMOR, 1000 m y FONDO) (Figura 27 y Tabla 7). El resto de las funciones estuvieron representadas en un menor porcentaje de sus genes constituyentes, la degradación de carbono complejo presentó solo el 94.1% de sus genes asignados, la fermentación 83.3%, fosforilación oxidativa 83.3%, ciclaje de azufre 71.4%, degradación de aromáticos 66.6%, metabolismo de metano 66.6%, ciclaje de nitrógeno 55.5%, ciclaje de arsénico 50%, fijación de carbono 28.6% e hidrogenasas 13.3%.

Al separar los MAGs en las diferentes profundidades, solo tres funciones metabólicas mostraron estar diferencialmente representadas en cada profundidad, la degradación de compuestos de carbono complejo con 94.1% en la profundidad de FONDO, 88.2% a 1000 m y 76.5% en la ZMOR; el ciclo del azufre con 71.4% en la profundidad de FONDO y 57.1% en las profundidades ZMOR y 1000 m y el ciclo del nitrógeno, con 55.6% a 1000 m y del 44.4% en las profundidades ZMOR y FONDO. El resto de las funciones mostró estar igualmente representado entre las distintas profundidades.

En el análisis de los ciclos biogeoquímicos de los 219 MAGs, se identificaron genes involucrados en transformaciones clave asociadas al ciclo del nitrógeno, carbono y azufre (Figura 27 y Figura 28a). En el ciclo del nitrógeno, la mayoría de los MAGs carecieron de los genes para completar todas las etapas del ciclo, incluyendo la fijación de nitrógeno (Paso 1), la oxidación de nitrito (Paso 3), la reducción de óxido nitroso (Paso 7) y el proceso de anammox (Paso 9). Para el resto de los pasos si se detectaron genes en los MAGs, y a su vez asociados a ciertas profundidades y grupos taxonómicos. En particular, la ZMOR presentó genes relacionados con, la oxidación de amonio (*amoABC*; Paso 2), la reducción de nitrato (*napAB, narGH*; Paso 4), la reducción de óxido nítrico (*norBC*; Paso 6) y la reducción de nitrito a amonio (*nrfADH, nirBD*; Paso 8). La profundidad de 1000 m presentó las mismas capacidades que ZMOR, además de la reducción de nitrito (*nirKS, octR*; Paso 5), y la de FONDO fue similar a la de 1000 m, aunque sin genes para la oxidación de amonio (Paso 2) (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.a**).

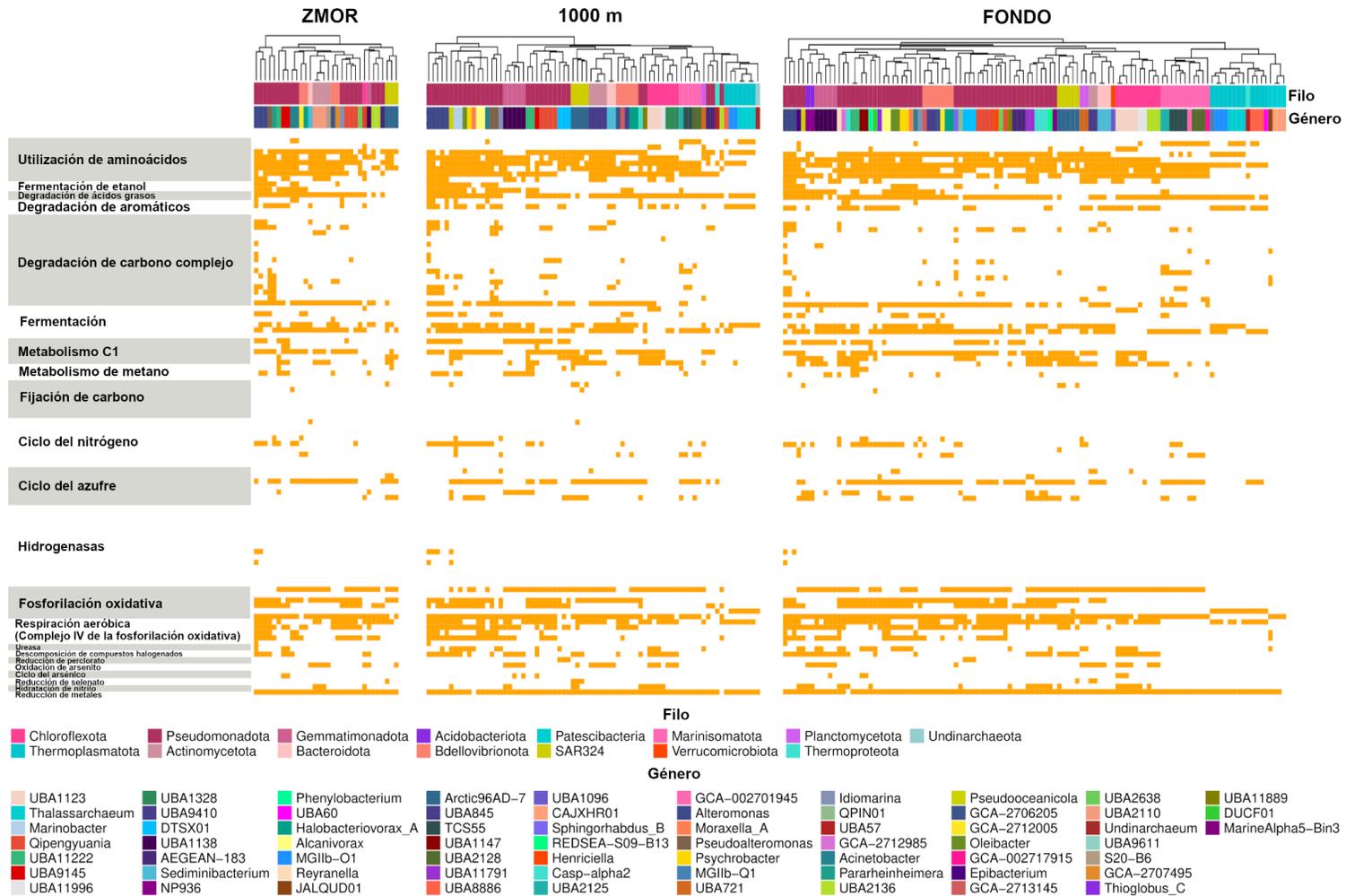


Figura 27. Mapa de calor de la distribución de la presencia/ausencia de genes clave en 22 funciones metabólicas a través de 219 MAGs en tres profundidades diferentes (ZMOR, 1000 m y FONDO). En este se presentan 104 entradas horizontales (104 líneas) correspondientes a los genes claves que componen las 22 funciones metabólicas, organizadas en el mismo orden que en la Tabla 7. Las celdas de color naranja indican la presencia de un gen específico en un MAG dado, mientras que las celdas en blanco indican su ausencia. Los MAGs están agrupados verticalmente según su asignación taxonómica a nivel de filo y género.

Tabla 7. Lista de los genes clave para cada función metabólica, manteniendo el mismo orden que se muestra en la Figura 27. En esta se resumen las categorías metabólicas, función y gen/genes claves resultantes del análisis con METABOLIC-G (hoja de resultados *FunctionHit*).

Categoría metabólica	Función	Gen/genes clave
Utilización de aminoácidos	Aminotransferasa de 4-aminobutirato y aminotransferasas relacionadas	Aminotransferasa de 4-aminobutirato y aminotransferasas relacionadas
	Aminotransferasas de clase I y II	Aminotransferasas de clase I y II
	Aminotransferasa de fosfoserina	Aminotransferasa de fosfoserina
	Aminotransferasa de ornitina/acetilornitina	Aminotransferasa de ornitina/acetilornitina
	Aminotransferasa de aminoácidos de cadena ramificada/4-amino-4-deoxicroisamato liasa	Aminotransferasa de aminoácidos de cadena ramificada/4-amino-4-deoxicroisamato liasa
	Aminotransferasa de aspartato/tirosina/aromáticas	Aminotransferasa de aspartato/tirosina/aromáticas
	Aminotransferasa de histidinol-fosfato/aromáticas	Aminotransferasa de histidinol-fosfato/aromáticas
	Aminotransferasa de piruvato-serina	Aminotransferasa de piruvato-serina/aminotransferasa de aspartato arqueal
Fermentación de etanol	Acetato => Acetaldehído	acetato => acetaldehído
	Acetaldehído => Etanol	acetaldehído => etanol
Degradación de ácidos grasos	Acil-CoA deshidrogenasa	acil-CoA deshidrogenasa
Degradación de aromáticos	Descomposición de protocatecuato/catecol	<i>catA</i>

	Fenol => Benzoil-CoA	<i>ubiX</i> <i>bsdC</i>
	Reducción de benzoil-CoA	<i>bcrABCD</i>
Degradación de carbono complejo	Degradación de celulosa	celobiosidasa
		celulasa
		beta-glucosidasa
	Desramificación de hemicelulosa	arabinosidasa
		beta-glucuronidasa
		alfa-L-rhamnosidasa
	Endohemicelulas	manano endo-1,4-beta-mannosidasa
		alfa-D-xiloside xilohidrolasa
	Otra descomposición de oligosacáridos	beta-xilosidasa
		beta-mannosidasa
		beta-galactosidasa
	Enzimas amilolíticas	alfa-amilasa
		glucoamilasa
		pululanasa
		isoamilasa
	Degradación de quitina	quitinasa
		hexosaminidasa

Fermentación	Oxidación de piruvato	<i>porA</i>
	Utilización de alcohol	<i>adh</i>
	Utilización de lactato	<i>ldh</i>
	Acetogénesis	<i>acdA</i> <i>ack</i> <i>pta</i>
	Acetato a acetil-CoA	<i>acs</i>
	Piruvato <=> acetil-CoA + formiato	<i>pfID</i>
Metabolismo C1	Oxidación de metanol	<i>mxAF</i> or <i>mdh</i>
	Amina metílica -> formaldehído	<i>mauAB</i>
	Oxidación de formaldehído	<i>fdhA</i> <i>fghA</i> <i>frmA</i> <i>mycoS_dep_FDH</i> <i>fae</i>
	Oxidación de formiato	<i>fdoG</i> <i>fdwB</i> <i>fdoH</i> <i>fdhAB</i>
	Oxidación de CO aeróbica	<i>coxS</i> <i>coxM</i> <i>coxL</i>
Metabolismo de metano	Oxidación de metano - Monooxigenasa de metano particulada	<i>pmoABC</i>
	Oxidación de metano - Monooxigenasa de metano soluble	<i>mmoBD</i>
	Producción de metano	<i>mcrABC</i>
Fijación de carbono	Ciclo CBB - Rubisco (Forma I)	<i>rbCL</i>
	Ciclo CBB - Rubisco (Forma II)	<i>rbCS</i>
	Ciclo de 3 hidroxipropionato	<i>mcr</i> <i>K14469</i>
	3HP/4HB	<i>K14466</i> <i>K18861</i>
	DC/4-HB	<i>K18861</i> <i>4hbl</i>
	Vía de Wood Ljungdahl	<i>cdhD</i> <i>cdhE</i> <i>cooS</i>

	Ciclo TCA inverso	<i>acIAB</i>
Ciclo del nitrógeno	Oxidación de amoníaco	<i>amoABC</i>
	Fijación de N ₂	<i>anfDKG nifDK vnfDKG nifH</i>
	Oxidación de nitrito	<i>nxrAB</i>
	Reducción de nitrato	<i>napAB narGH</i>
	Reducción de nitrito a amonio	<i>nrfADH nirBD</i>
	Reducción de nitrito	<i>nirKS octR</i>
	Reducción de óxido nítrico a amonio	<i>norBC</i>
	Reducción de óxido nitroso	<i>nosDZ</i>
	Anammox	<i>hzoA hzsA</i>
Ciclo del azufre	Oxidación de sulfuro	<i>fccB sqr</i>
	Reducción de sulfito	<i>dsrABD asrABC</i>
	Oxidación de azufre	<i>sdo sor</i>
	Reducción de azufre	<i>sreABC sor</i>
	Oxidación de tiosulfato	<i>soxBCY</i>
	Reducción de sulfato	<i>aprA sat</i>
	Desproporción de tiosulfato	<i>phsA</i>
Hidrogenasas	Hidrogenasa de FeFe	<i>fefe-group-a13</i>
		<i>fefe-group-a2</i>
		<i>fefe-group-a4</i>
		<i>fefe-group-b</i>
		<i>fefe-group-c1</i>
		<i>fefe-group-c2</i>

		fefe-group-c3
	Hidrogenasa de Fe	fe
	Hidrogenasa de Ni-Fe	nife-group-1
		nife-group-2ade
		nife-group-2bc
		nife-group-3abd
		nife-group-3c
		nife-group-4a-g
		nife-group-4hi
Fosforilación oxidativa	Complejo I (NADH-quinona oxidoreductasa)	<i>nuoABC</i>
	Complejo I (NAD(P)H-quinona oxidoreductasa)	<i>NdhABC</i>
	Complejo II (Deshidrogenasa de succinato/reductora de fumarato)	<i>sdhCD</i>
	Complejo III (Reductora de citocromo c)	<i>petAB</i> <i>fbcH</i>
	Complejo V (Sintetasa de ATP: V/A tipo H ⁺ /Na ⁺ -transporte de ATPasa)	<i>atpAB (V/A-type)</i>
	Complejo V (ATPasa de tipo F)	<i>atpAD (F-type)</i>
Respiración aeróbica (Complejo IV de fosforilación oxidativa)	Metabolismo de oxígeno - citocromo c oxidasa, tipo caa3	<i>coxAB</i>
	Metabolismo de oxígeno - citocromo c oxidasa, tipo cbb3	<i>ccoNOP</i>

	Metabolismo de oxígeno - citocromo (quinona) oxidasa, tipo bo	<i>cyoABCD</i>
	Metabolismo de oxígeno - citocromo (quinona) oxidasa, tipo bd	<i>cydAB</i>
	Metabolismo de oxígeno - citocromo (quinona) oxidasa, tipo aa3, QoxABCD	<i>qoxAB</i>
Utilización de urea	Ureasa	<i>ureABC</i>
Utilización de compuestos halogenados	Descomposición de compuestos halogenados	E3.8.1.2 <i>pcpC</i> <i>cprA</i> <i>pceA</i>
Reducción de perclorato	Reducción de perclorato	<i>pcrAB</i>
Reducción de clorito	Reducción de clorito	<i>clD</i>
Ciclo del arsénico	Oxidación de arsenito	<i>arxA</i> <i>aioA</i>
Ciclo del arsénico	Reducción de arsenato	<i>arrA</i>
Reducción de selenato	Reducción de selenato	<i>ygfMK</i> <i>xdhD</i>
Hidratación de nitrilo	Hidratasa de nitrilo	<i>nthAB</i>
Reducción de metales	Reducción de metal (Hierro/Manganeso)	Genes de la serie de reducción de hierro

En términos de grupos taxonómicos, los genes correspondientes al Paso 8, que se encargan de la reducción de nitrito a amonio, fueron los más comunes y se identificaron principalmente en los MAGs de los filos Pseudomonadota, Bdellovibrionota, Marinisomatota y Planctomycetota. Además, se observó que estos mismos MAGs presentaron casos de co-ocurrencia de los genes del Paso 8 con los del Paso 4 (reducción de nitrato a nitrito) o del Paso 6 (reducción de óxido nítrico). *Marinobacter* en las muestras de 1000 m fue el único MAG que exhibió simultáneamente genes de al menos cuatro pasos (4, 5, 6 y 8). Por último, solo

dos MAGs mostraron genes para la oxidación de amonio, uno del género *Sediminibacterium* (filo Bacteroidota) en ZMOR y otro en *Arctic96AD-7* (filo SAR324) a 1000 m de profundidad (Figura 27).

Del mismo modo, se identificaron genes asociados a casi todos los pasos del ciclo del carbono (Figura 27 y Figura 28b), con la excepción de genes para la generación de hidrógeno (Paso 5) y la metanogénesis (Paso 7). Entre las funciones presentes, destacaron la oxidación de carbono orgánico (Paso 1) y la oxidación de acetato (Paso 4), debido a que estuvieron ampliamente distribuidas en los MAGs, sin preferencia por una profundidad específica (Figura 28b). Estos resultados indican que los MAGs tienen capacidad potencial de oxidar compuestos orgánicos complejos, como aminoácidos, ácidos grasos y compuestos aromáticos, gracias a la presencia de genes relacionados con la fosforilación oxidativa y la respiración oxigénica. En contraste, la fijación de carbono (Paso 2) estuvo restringida a tres MAGs: *Arctic96AD-7* (SAR324), *DUCF01* y *Pseudoceanicola* (Pseudomonadota), que poseían los genes *rbcl* y *rbcS* de la RuBisCO, presentes en todas las profundidades. Por otro lado, menos del 20% de los MAGs presentaron genes asociados con la oxidación de etanol (Paso 3). En cuanto a procesos de fermentación (Paso 6), los genes *adh*, *acdA*, *ack*, *pta* y *acs* estuvieron presentes en casi todos los MAGs, solo el gen *pflD* estuvo ausente. La metanotrofia (Paso 8) se detectó en MAGs que contenían los genes *mmoBD* y *mcrABC*, específicamente en los géneros *UBA11222*, *DTSX01*, *UBA1147* (filo Pseudomonadota), *Arctic96AD-7* (filo SAR324) y *UBA2125* (filo Marinisomatota), donde ambos genes estuvieron presentes simultáneamente (Figura 27). En *Alteromonas*, *Casp-alpha2*, *Marinobacter*, *Moraxella_A*, *Reyranella* y *UBA9145* (Filo Pseudomonadota), así como en *GCA-2706205* (filo Bdellovibrionota), *MGIIb-Q1* (filo Thermoplasmatota), *TCS55* (filo Marinisomatota) y *UBA1138* (filo Gemmatimonadota), solo se encontró uno de los genes mencionados. Finalmente, las hidrogenasas (Paso 9) de los genes *NiFe-1* y *NiFe-2bc* se encontraron exclusivamente en *Alteromonas* y *Pseudoceanicola* (filo Pseudomonadota), sin variación entre profundidades (Figura 28b).

Para el ciclo del azufre, se identificó la presencia de casi todos los genes clave asociados a las nueve reacciones que componen este ciclo (Figura 27 y Figura 28c), con la excepción de los genes para la reducción de azufre (Paso 2) y la desproporción de tiosulfato 1 (Paso 8). Los genes asociados a la oxidación de azufre (Paso 3; *sdo*, *sor*), oxidación de sulfito (Paso 4; *aprA*, *sat*), reducción de sulfato (Paso 5; *aprA*, *sat*), oxidación de tiosulfato (Paso 7; *soxB*, *soxC*, *soy*) y desproporción de tiosulfato 2 (Paso 9; *phsA*) estuvieron presentes en todas las profundidades analizadas.

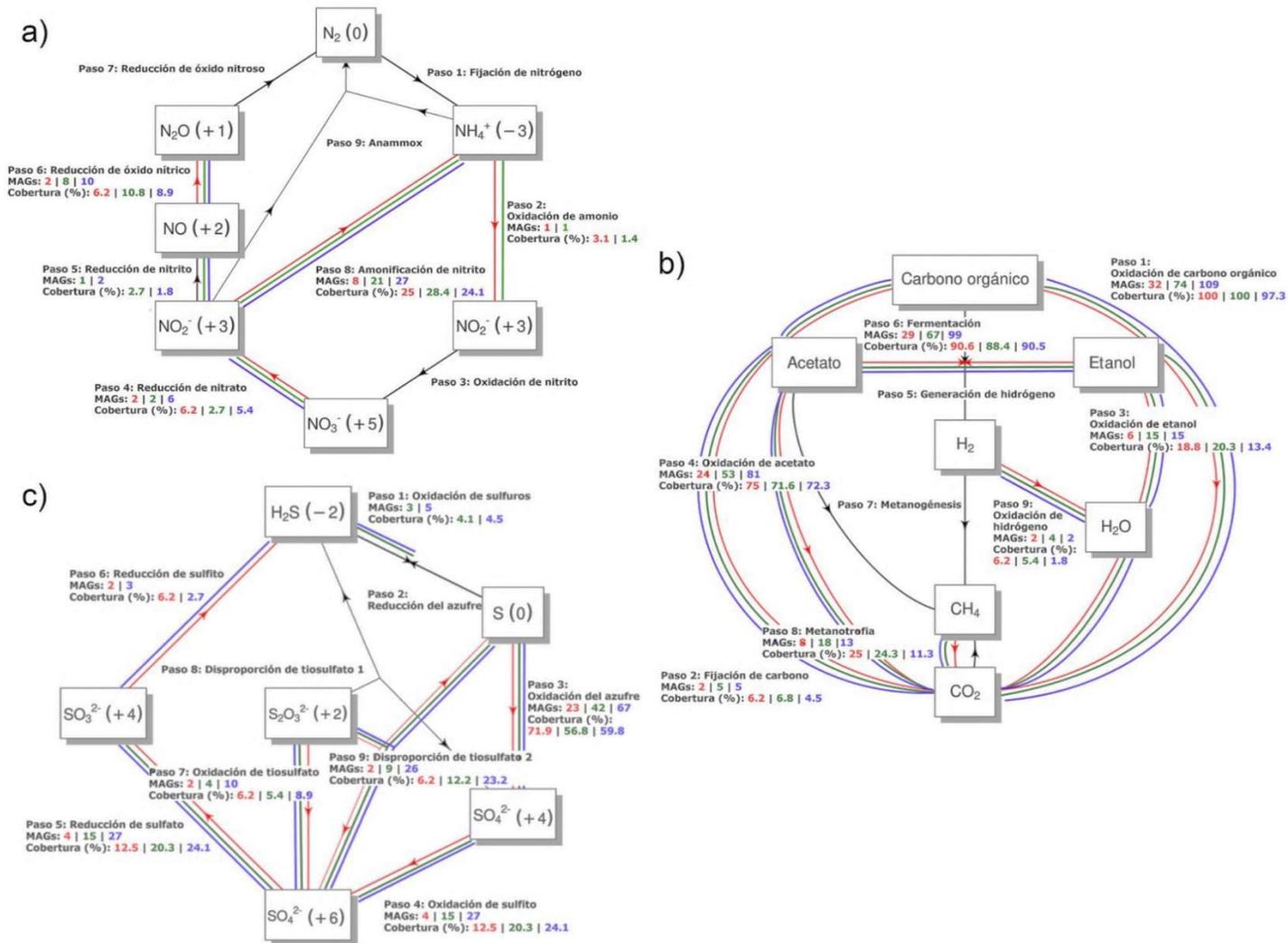


Figura 28. Ciclos biogeoquímicos identificados en los 219 MAGs: a) ciclo del nitrógeno, b) ciclo del carbono y c) ciclo del azufre. Cada flecha representa una transformación o paso único dentro de un ciclo. Las flechas rojas indican los pasos presentes en MAGs de la profundidad de ZMOR; las verdes corresponden a 1000 m; y azules a FONDO; y las flechas negras indican la ausencia de pasos en los MAGs. Junto a cada flecha se muestra el número de MAGs capaces de realizar esos pasos, así como la cobertura metagenómica, es decir, el porcentaje de MAGs que presentan un paso particular entre todos los MAGs de la misma profundidad

En contraste, los genes de la oxidación de sulfuros (Paso 1; *fccB*, *sqr*) se detectaron únicamente en las profundidades de 1000 m y FONDO, y los de la reducción de sulfito (Paso 6; *soxBCY*) solo se encontraron en ZMOR y FONDO (Figura 28c). En términos generales, los MAGs que mostraron tener genes de este ciclo pertenecieron principalmente a los géneros de los filos *Pseudomonadota*, *Marinisomatota* y *SAR324*. Por otro lado, los genes de la oxidación de azufre fueron los más prominentes del ciclo, presentes en más del 50% de los MAGs de todas las profundidades. Por último, destacó un MAG del género *Thioglobus_C* (*Pseudomonadota*), el único en contener genes para cinco de los nueve pasos simultáneamente (3, 4, 5, 6 y 9) (Figura 27).

Finalmente, entre los genes implicados en la degradación de hidrocarburos, además de los relacionados con la metanotrofia, se encontró la presencia del gen *catA* en varios géneros que pertenecían al filo *Pseudomonadota* (Figura 27 y Tabla 7). Entre estos géneros se incluyeron *Marinobacter*, *Alteromonas*, *Casp-alpha2* y *Acinetobacter*. Dicho gen codifica para la enzima catecol 1,2-dioxygenasa, que juega un papel crucial en la degradación de hidrocarburos aromáticos al facilitar la conversión de compuestos aromáticos en metabolitos menos tóxicos.

Capítulo 4. Discusión

4.1 Subtema 1: De la caracterización de la estructura de las comunidades de bacterias y arqueas, mediante *metabarcoding*

Como contribución al conocimiento de la ecología de microorganismos de vida libre en las zonas mesopelágica y batipelágica del océano (profundidades >200 m), analizamos las comunidades de bacterias y arqueas en el sur del GdM, una región oligotrófica con baja NPP, pero con la capacidad de secuestrar parte de esta PPN en aguas profundas (Stukel et al., 2021). Que además posee una dinámica oceanográfica por encima de los 1000 m de profundidad dominada por procesos asociados con la CL, como son los giros anticiclónicos de núcleo caliente que introducen agua caribeña (Portela et al., 2018), así como la posible presencia de filtraciones naturales de hidrocarburos (Chapopoteras) (MacDonald et al., 2015). Estos factores, entre otros, confieren a la región características singulares que sugieren un entorno complejo, el cual podría influir en la estructura y función de las comunidades microbianas en esta región.

4.1.1 *Las zonas mesopelágica y batipelágica del GdM está dominada por un reducido conjunto de taxones*

En terminos taxonómicos, los órdenes de arqueases Nitrosopumilales (reclasificados en el filo Thermoproteota; Parks et al., 2020) y Marine Group II y III (filo Euryarchaeota) dominaron la comunidad microbiana en las cuatro profundidades analizadas (Figura 4, Figura 5 y Figura 9), lo que coincide con su predominio global en las zonas mesopelágica y batipelágica del océano como parte del picoplancton de vida libre (Karner et al., 2001; Mena et al., 2021; Salazar et al., 2015). A ellos les siguieron en abundancia los órdenes bacterianos Alteromonadales y el filo SAR324 (Marine Group B). Resaltando la importancia de estos grupos en los procesos metabólicos de las profundidades meso y batipelágicas del golfo.

Nitrosopumilales, disminuyó en abundancia progresivamente hacia zonas más profundas (Figura 4 y Figura 14), un patrón reportado en el Pacífico (Shao et al., 2022), Atlántico (Gómez-Letona et al., 2022), Mediterráneo (Mena et al., 2021) y Mar de China Meridional (Li et al., 2021). De forma paralela, los Nitrospinales también redujeron su abundancia con la profundidad (Figura 3). Esta covariación ya se ha reportado en estudios previos (Gómez-Letona et al., 2022; Mena et al., 2021), donde se sugiere la

interacción metabólica entre las arqueas oxidantes de amonio (AOA; miembros del orden Nitrosopumilales, y que oxidan NH_4^+ a NO_2^-) y las bacterias oxidantes de nitrito (NOB; como son los Nitrospinales, que transforman NO_2^- en NO_3^-), pasos cruciales en el proceso de reciclaje del nitrógeno.

Marine Group II, por su parte, también disminuyó en abundancia con la profundidad (Figura 4 y Figura 9), lo que coincide con la co-ocurrencia con Nitrosopumilales ya reportada por Gómez-Letona et al. (2022) en el atlántico. Este grupo tiene un estilo de vida heterótrofo (Deschamps et al., 2014), vinculado al ciclo del carbono, con genes asociados a la degradación de proteínas, polisacáridos y lípidos, así como al transporte intermembrana de moléculas orgánicas (Tully, 2019; Zhang et al., 2015). Mientras que Marine Group III, no mostró un patrón con la profundidad, y la información de su posible función en el océano es limitada. Aunque ha sido reconocido como un grupo minoritario común en el océano profundo (Galand et al., 2009; Li et al., 2021; Oger et al., 2016), con un potencial metabólico de vida heterótrofa (Haro-Moreno et al., 2017; Martin-Cuadrado et al., 2008).

4.1.2 *La zona batipelágica del GdM es altamente heterogénea en términos composicionales*

Las Alteromonadales, por su parte mostraron mayor abundancia relativa en la zona batipelágica (especialmente en las estaciones Y7-X6, F37-X6, PO1-X5, D30-X6, D27-X6, A7-X5 y A10-X5; Figura 4 y Figura 5). Este patrón coincide con estudios globales que han identificado a Alteromonadales como uno de los taxones dominantes en ambientes profundos (Salazar et al., 2016). Aunque, si bien el uso de los primers 515F/806R (Caporaso et al., 2011) podría inflar artificialmente su abundancia por ser miembros de la clase Gammaproteobacteria (Parada et al., 2016), su relevancia ecológica podría explicar su alta abundancia en el FONDO, ya que tienen la capacidad de colonizar materia orgánica particulada de hundimiento rápido y de degradar compuestos recalcitrantes (Bartual et al., 2005; Ivars-Martinez et al., 2008), así como de degradar de forma aeróbica algunos hidrocarburos (Rosenberg, 2013), evidencia de ello fue su rápida respuesta al derrame de Deepwater Horizon en el GdM (Joye et al., 2014b; Kleindienst et al., 2016).

Además de las Alteromonadales, otros órdenes bacterianos vinculados a la degradación de hidrocarburos también fueron más abundantes en ciertas estaciones de la región batipelágica (Figura 5). Pseudomonadales (en las estaciones A6, A7 y C23, todas de X7) y Oceanospirillales (en A4 y C22 de X5), que son críticos en la degradación inicial de alcanos y compuestos aromáticos (Cerqueda-García et al., 2020; Hazen et al., 2010). Rhodobacterales (en D30 y A10 de X6) y Sphingomonadales (en D27 y A10 de

X6), asociados a la metabolización de hidrocarburos aromáticos policíclicos (Cappello et al., 2016; Peeb et al., 2022; Wang et al., 2020). Y los Methylococcales (en las estaciones A10-X5 y C21-X6) un grupo metanotrófico clave en la oxidación de metano, un hidrocarburo común de zonas con filtraciones naturales o derrames de petróleo (Ruff et al., 2018; Valentine et al., 2010).

De igual forma, en estaciones específicas del batipelágico, surgieron otros grupos que no estaban relacionados con la degradación de hidrocarburos (Figura 5), pero que mostraron alta abundancia. Fue el caso del orden Synechococcales en F37-X6 y PO1-X5, donde se identificó el ecotipo de baja luz *Prochlorococcus MIT9313*, un grupo de cianobacterias autótrofas típicas de la zona eufótica del GdM (Linacre et al., 2019). Su presencia en FONDO podría deberse a mecanismos de transporte vertical mediados por el hundimiento de MOP, que actuarían como vectores de células desde la superficie (Ruiz-González et al., 2020; Zhang et al., 2022), tal como se ha reportado en el pacífico (Sohrin et al., 2011). Así como también a procesos de resuspensión de sedimentos provocados por corrientes profundas, como es el caso de la capa nefelóide reportada en esta estación PO1 (Gardner et al., 2022), o al arrastre de partículas desde la plataforma en el caso de la estación F37, ubicada en las cercanías de la desembocadura del río Grijalva.

Aunque la profundidad de FONDO mostró poca variación en sus parámetros fisicoquímicos (Tabla 2), esta presentó gran heterogeneidad taxonómica entre estaciones, lo que se vio respaldado por otros parámetros como la alta dispersión de las estaciones de FONDO en el NMDS (Figura 7) y el índice de Gini, con una distribución altamente desigual de los ASVs (92.3% de ASVs con Gini \geq 0.5; Figura 30). Lo que sugiere la existencia de microhábitats especializados en el fondo, posiblemente vinculados a la disponibilidad de sustratos como hidrocarburos o materia orgánica particulada. Lo que podrían favorecer la dominancia de ciertos taxones específicos, como Alteromonadales y Oceanospirillales, en determinadas estaciones. En contraste, la mayor homogeneidad observada en las profundidades mesopelágicas (ZMOR, 800 m y 1000 m) podría reflejar condiciones ambientales más estables.

4.1.3 *El gradiente fisicoquímico vertical y factores regionales moldearon las comunidades de bacterias y arqueas de la zona afótica del GdM*

Se determinó que la estructura de las comunidades estuvo moldeada por una compleja interacción entre gradientes verticales de características intrínsecas de las masas de agua, como profundidad, temperatura, salinidad y CAO, así como por factores ambientales locales.

En la ZMOR, que corresponde al núcleo de la TACW, se registró alta riqueza y diversidad de ASVs (Figura 6) con 23.5% de ASVs únicos (Figura 7a). Este patrón contrasta con los hallazgos en las zonas de mínimo oxígeno ($OD < 100 \mu\text{mol kg}^{-1}$) en aguas altamente productivas del Atlántico, donde se observa una disminución de la diversidad y riqueza en la zona mesopelágica, en comparación con valores más altos en la zona batipelágica (Gómez-Letona et al., 2022). Sin embargo, en nuestra área de estudio se exhibieron valores de oxígeno relativamente altos ($>100 \mu\text{mol kg}^{-1}$), lo que indica que no se trata de una ZMO real; las concentraciones de oxígeno en la ZMOR fueron solo menores que en las profundidades circundantes, sin alcanzar las condiciones hipóxicas observadas en ZMO reales ($<20 \mu\text{mol kg}^{-1}$; Paulmier & Ruiz-Pino, 2009).

De igual forma, la comunidad de la ZMOR se vio moldeada por su posicionamiento geográfico, habiendo diferencias significativas entre las estaciones en el sur y la región de la CL (Tabla 10). Lo que probablemente se deba a los altos niveles de productividad que hay en zona epipelágica de las estaciones influenciadas por el remolino ciclónico semipermanente en el sur y aquellas cercanas a la costa (por ejemplo para H47-X5, H46-X5, G44-X5, TS-X5), donde hay un aumento de la exportación de carbono y las tasas de respiración en la zona mesopelágica, y en consecuencia un aumento del CAO (Villegas-Mendoza et al., 2022), en contraste con las estaciones en la CL que podrían estar siendo oxigenadas (Quintanilla et al., 2024), lo que disminuye el valor del CAO.

La profundidad de 800 m, por su parte, en el núcleo de AAIW mostró la distribución menos desigual de ASVs (Gini más bajo, Figura 30), con valores de CAO similares a ZMOR ($163.8 \mu\text{mol kg}^{-1}$), la concentración de nutrientes más altos y temperatura intermedia. Condiciones que podrían favorecer microorganismos probablemente muchos de ellos heterótrofos y generalistas, como lo confirma la red de co-ocurrencia, con una conectividad moderada, pocos nodos centrales y 82% de correlaciones positivas (Figura 11 y Figura 12), sugiriendo una comunidad con interacciones cooperativas, de ambientes estables sin dominancia de especialistas.

La estructura de las comunidades en 800 m presentó similitudes con las de 1000 m (Figura 6, Figura 7, Figura 8 y Figura 10). Esta conexión puede explicarse por el hecho de que la profundidad de 1000 m es considerada una zona de transición y/o mezcla entre las aguas del mesopelágico y el batipelágico (Portela et al., 2018; Valencia-Gasti et al., 2022). En particular, este fenómeno ha sido atribuido a procesos físicos como la contracorriente en la entrada del Canal de Yucatán, que incrementa la mezcla vertical entre 800 y 1200 m de profundidad, además de interacciones con el relieve submarino (Candela et al., 2019).

En contraste con las profundidades superiores, el FONDO, asociada a la masa NADW (fría, bien oxigenada y homogénea), mostró la menor riqueza de ASVs pero la mayor dominancia (índice de Simpson alto, Figura 6). Aunque el oxígeno disuelto fue máximo en esta profundidad ($203 \pm 4 \mu\text{mol kg}^{-1}$), el CAO ($116.8 \pm 4 \mu\text{mol kg}^{-1}$) indicó una actividad respiratoria reducida. Lo que podría deberse a estudios recientes que reportan que el agua del fondo del golfo está compuesta no solo por NADW, sino también por agua del Mar de Labrador (LSW) (Valencia-Gasti et al., 2022), una masa de agua más joven.

Una mayor abundancia de taxones especializados en la degradación de hidrocarburos en la profundidad de FONDO (Figura 4, Figura 5 y Figura 9), sugiere una comunidad microbiana adaptada a ambientes oligotróficos, donde la materia orgánica disponible es predominantemente recalcitrante o deriva de fuentes puntuales, como filtraciones naturales. Esta especialización funcional se reflejó en la estructura de la red de co-ocurrencia, caracterizada por una baja conectividad general y pocos nodos críticos (Figura 12), lo que apoya la hipótesis de la existencia de microhábitats independientes con dinámicas locales. Sin embargo, la alta cohesión global y el predominio de interacciones positivas (82%) indicaron una comunidad estable, donde los taxones cooperan para maximizar la eficiencia metabólica en un entorno de recursos limitados. Curiosamente, la comunidad de FONDO presentó correlación positiva con la profundidad del suelo marino (Tabla 4 y Figura 10a) lo que nuevamente podría evidenciar la interacción de las aguas con sedimentos bentónicos por medio de partículas resuspendidas en capas nefeloides (Gardner et al., 2022).

4.1.4 *Arqueas desconocidas dominan las zonas mesopelágica y batipelágica del GdM*

Hasta donde sabemos, la estructura de la comunidad de arqueas en el sur del GdM, sigue siendo poco conocida. Los datos existentes se limitan a aguas someras de la plataforma de Yucatán (180 m de profundidad) (Valencia-Agami et al., 2019) y a sedimentos marinos (Torres-Beltrán et al., 2021). En esta sección se busca describir, de forma más detallada e independiente de la comunidad bacteriana, la diversidad de arqueas en la región.

La comunidad de arqueas estuvo dominada mayoritariamente por filotipos desconocidos de tres filos, Thermoproteota (principalmente por filotipos del orden Nitrosopumilales), Thermoplasmata (de los órdenes Marine Group-II y II) y Nanoarchaeota (del orden Woesearchaeales), que en conjunto representaron más del 95% de la comunidad de arqueas (Figura 13 y Figura 14).

Thermoproteota ha sido ampliamente identificado como dominante en la zona afótica del océano abierto (Salazar et al., 2016; Sunagawa et al., 2015; Tolar et al., 2013). Su dominancia en ambientes marinos podría atribuirse a su metabolismo heterotrofo, y/o mixotrofo, clave en la remineralización de materia orgánica de alto peso molecular. Un ejemplo de ello es Nitrosopumilales, uno de los órdenes dominantes en nuestro estudio, que incluye especies mixotrofos vinculadas a la oxidación de amoníaco (NH_3) a nitrito (NO_2^-), un paso fundamental en la nitrificación (Könneke et al., 2005).

Aunque los Nitrosopumilales fueron abundantes en todas las profundidades, su presencia fue mayor en la zona mesopelágica. Esta abundancia podría explicar parcialmente el consumo de oxígeno disuelto y el aumento de nitrato por remineralización reportado entre 248 y 805 m en el GdM por (Valencia-Gasti et al. (2022) . Además, distintos filotipos podrían responder a variaciones en las concentraciones de oxígeno (Figura 16 y Tabla 11) mediante adaptaciones metabólicas, como se ha propuesto anteriormente (Mena et al., 2022; Semedo et al., 2021). Pese a su amplia distribución, todos los miembros de Nitrosopumilaceae permanecieron sin clasificar a nivel de género, lo que refleja el escaso conocimiento sobre este grupo y la gran proporción de arqueas no cultivadas (Steen et al., 2019).

Se observó una disminución en la abundancia de Nitrosopumilales y Marine Group II con la profundidad, mientras que Marine Group III, Woesearchaeales y *Methanofastidiosales* incrementaron su presencia. Estas variaciones podrían explicar diferencias entre las zonas mesopelágica y batipelágica. Sugiriendo mayor actividad metabólica ligada al nitrógeno en aguas superficiales (mesopelágicas), frente a una mayor abundancia de grupos asociados al ciclo del metano en aguas profundas (Figura 14). Además, la identificación de filotipos únicos a lo largo del gradiente de profundidad y estaciones específicas del FONDO (Figura 14 y Figura 16) refuerza la idea de una especialización ecológica o funcional (nichos microbianos) en la columna de agua y a lo largo de la profundidad de FONDO.

La heterogeneidad composicional bacteriana a lo largo de la zona batipelágica, respaldada por análisis de ordenación (NMDS) e índices de diversidad, también se observó en la comunidad de arqueas, donde diferentes taxones mostraron mayor abundancia en estaciones específicas (Figura 14). Ejemplo de ello fueron los filotipos del Marine Benthic Group A (filo Thermoproteota), un grupo vinculado a sedimentos marinos y respiraderos hidrotermales (Inagaki et al., 2006; Lai et al., 2020; Lecoeuvre et al., 2021); miembros de la familia Geothermarchaeaceae en estaciones cercanas al Canal de Yucatán, asociados típicamente a ambientes hidrotermales (Jungbluth et al., 2017; Le Moine Bauer et al., 2023); así como metanógenos (*Methanofastidiosales*, *Methanoregula*, *Methanospirillum*) y halófilos (*Halomicrobiaceae*). La presencia de todos estos grupos podría deberse a la presencia filtraciones frías, sedimentos salinos o

actividad de respiraderos en el GdM. Sin embargo, no se descarta que algunos correspondieran a restos celulares inactivos transportados desde la superficie por procesos de hundimiento de partículas (Ruiz-González et al., 2020).

4.1.5 *El potencial funcional del microbioma del mesopelágico y batipelágico del GdM es homogéneo*

El hallazgo de un conjunto reducido de rutas metabólicas diferencialmente abundantes (solo 24 rutas entre ZMOR-FONDO; Figura 17) sugiere que, aunque la profundidad influye en la funcionalidad microbiana, las comunidades podrían exhibir una alta redundancia funcional, donde distintos taxones realizan roles metabólicos equivalentes, amortiguando así divergencias extremas en las capacidades globales del microbioma (Allison y Martiny, 2008; Louca et al., 2018). En FONDO, la mayor abundancia de metanogénesis ($H_2 + CO_2$) en estaciones como A7-FONDO-X5 y A10-FONDO-X5 propone la existencia de microhábitats anóxicos en partículas orgánicas o cerca de filtraciones de hidrocarburos (Joye et al., 2011), donde arqueas metanogénicas pudieran aprovechar sustratos gaseosos en microzonas reductoras, aun en aguas oxigenadas (Valentine, 2011). Mientras que en la ZMOR destacan rutas como el ciclo de S-adenosil-L-metionina I (osmoprotección en A6-ZMOR-X7), vinculada a fluctuaciones salinas y alta concentración de materia orgánica particulada, y la degradación de sulfolactato (en B12-ZMOR-X7), asociada al procesamiento aerobio de sulfolípidos (Kertesz, 2000). Además, la presencia de rutas de degradación de compuestos aromáticos (catecol, 2-aminofenol) y biosíntesis activa de cofactores (NAD, tiamina) en ZMOR refleja un ambiente dinámico, con acceso a materia orgánica lábil que favorecen metabolismos aeróbicos (Díaz et al., 2013; Peng et al., 2008).

4.2 Subtema 2: De la caracterización del potencial funcional de bacterias y arqueas a través de MAGs

4.2.1 *Diversidad taxonómica de los los MAGs caracterizados*

Se reconstruyeron 219 MAGs de alta calidad (completitud $\geq 85\%$, contaminación $\leq 10\%$) pertenecientes a 67 géneros y 15 filos (Figura 25), con una representación predominante del dominio Bacteria (90%) sobre Archaea (10%). Entre los filos más abundantes destacaron Pseudomonadota (41.8%), Chloroflexota

(10.3%) y Marinisomatota (8.4%), mientras que en arqueas predominaron Thermoplasmatota (6.6%) y Thermoproteota (1.1%). Este conjunto de MAGs incluyó grupos microbianos clave reportados en estudios globales de aguas profundas, como Alteromonadales, Rhodobacterales y Nitrosopumilales ([Acinas et al., 2021](#); [Salazar et al., 2016](#)), lo que valida la calidad y relevancia ecológica de los genomas recuperados.

Aunque la diversidad taxonómica inferida por los MAGs (219 genomas) fue menor que la detectada mediante *metabarcoding* del gen 16S ARNr (8237 ASVs, el 3%), este patrón es consistente con estudios previos que emplean metagenómica de *shotgun*. Por ejemplo, en el proyecto de la expedición Malaspina, cuya reconstrucción de MAGs capturó solo el 10% ([Acinas et al., 2021](#)) de la diversidad total detectada por *metabarcoding* ([Logares et al., 2014](#)). Sin embargo, en términos taxonómicos, los grupos de bacterias que dominaron las profundidades ZMOR, 1000 m y FONDO, detectados por *metabarcoding* (Figura 4) fueron similares a los detectados con MAGs (Figura 25b), siendo las Alteromonas (filo Pseudomonadota) las más abundantes en ambos análisis, seguidas en abundancia por grupos como los filos Marinisomatota (también llamado Marinimicrobia SAR406), Chloroflexota y SAR324. En contraste, la diversidad de MAGs de arqueas no reflejó los resultados del *metabarcoding*. El caso más notable fue Nitrosopumilales (filo Thermoproteota), predominante en el *metabarcoding* pero representado solo por tres MAGs reconstruidos

La menor diversidad de MAGs frente al *metabarcoding* es un fenómeno esperado y reportado en la literatura debido a cuestiones metodológicas asociadas al ensamble de los MAGs. El primer paso donde posiblemente se da pérdida es en la selección de las muestras, ya que solo se analizaron 18 (*shotgun*) de las 95 muestras iniciales (*metabarcoding*), lo que pudo ocasionar la omisión de taxones microbianos, por ejemplo, provenientes de la profundidad de 800 m, o a partir de alguna(s) estación(es) específica(s).

La tagmentación aleatoria con el kit Nextera XT (para *shotgun*), cuya eficiencia se ha reportado depende del contenido de GC en el motivo de unión ([Segerman et al., 2022](#)), suele causar el submuestreo de genomas con bajo porcentaje de GC (<35%), como los de muchos taxones marinos. Este sesgo técnico podría explicar por qué organismos detectados en gran abundancia por *metabarcoding*, como por ejemplo, las arqueas oxidantes de amonio (AOA) del filo Thaumarchaeota (Figura 14), que tienen 34.6–36.1% de GC (Zheng et al., 2024) tuvieron tan poca representatividad en los MAGs (Figura 25), ya que sus fragmentos pudieron haber quedado enmascarados por genomas de bacterias más grandes y con mayor % de GC, como es el caso de las Alteromonas que tienen 44.3–45% de GC ([Varasteh et al., 2025](#)). Además, la secuenciación con la plataforma NextSeq 2000, aunque de alto rendimiento, combina dos limitaciones, i) una tasa de error elevada en homopolímeros que puede afectar el ensamblaje de genomas repetitivos

([Chen et al., 2024](#)), y resultar en ensamblajes inexactos, identificación errónea de variantes genéticas y subestimación de la diversidad, y ii) una profundidad de secuenciación que podría ser insuficiente para alcanzar la cobertura mínima requerida de taxones minoritarios ([Rocha et al., 2024](#)), tal podría ser el caso de la muestra A6-1000, cuyo número de secuencias fue el más bajo de todas las muestras 30 920 976 (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), cinco veces menor que el promedio.

Por otro lado, la combinación de distintas herramientas como *Illumina Utils* y *Trimmomatic* en el proceso de control de calidad, que resultó en la eliminación del 30% de lecturas cortas (de <50 pb), y de baja calidad en los extremos (Q<20) (Figura 19), junto a una configuración de ensamblaje orientada hacia la construcción de contigs largos (>1000 pb) con MEGAHIT en modo *sensitive*, podría limitar la recuperación de MAGs de genomas pequeños (<1.5 Mb) o con regiones altamente repetitivas. Lo que podría explicar, la baja representación de grupos como el clado SAR11, bacterias heterótrofas dominantes en el océano, pero de genomas pequeños (~1.3 Mb) ([Grote et al., 2012](#)), o de grupos con estructuras genómicas repetitivas como es la isla de magnetosomas (MAI) en *Magnetospirillum*, donde los operones y secuencias repetidas son esenciales para la síntesis de nanopartículas magnéticas ([Ullrich et al., 2005](#)).

Asimismo, Las herramientas de *binning* (MetaBAT2, CONCOCT, MaxBin2) y la consolidación mediante DAS Tool al depender de patrones de cobertura y perfiles de composición nucleotídica pueden introducir sesgos que limitan la discriminación entre genomas similares ([Wang et al., 2023](#); [Yang et al., 2021](#)). Por ejemplo, en grupos con gran número de ecotipos como *Prochlorococcus* o Nitrosopumilales ([Pajares & Del Carmen Pelayo, 2025](#); [Thompson & Kouba, 2019](#)), que presentan diferencias genómicas sutiles entre ellas, estas herramientas podrían agrupar en un mismo *bin* a múltiples ecotipos, conduciendo a una subestimación de la diversidad. Asimismo, genomas que comparten perfiles de tetranucleótidos similares podrían fusionarse incorrectamente durante el proceso de *binning*; y resultar en una mayor contaminación y pérdida de *bins* al consolidar, tal como ocurrió en nuestro proceso (Figura 22).

De igual forma, la dependencia de bases de datos de referencia (como UniProt, HAMAP, Pfam, TIGRFAMs) por parte de los programas Prokka y METABOLIC-G pudo haber introducido sesgos que conllevan a la subestimación de funciones metabólicas en los MAGs. Por ejemplo, la presencia de bacterias degradadoras de hidrocarburos detectadas en los MAGs fue alta (Figura 25), pero esto no se reflejó en los resultados de METABOLIC-G para enzimas relacionados con este tipo de degradación (

Figura 27 y Tabla 7), donde hubo poca representación.

Por todo lo anterior, las limitaciones técnicas y sesgos metodológicos pudieron ser en gran medida las causantes de que los MAGs no representen la diversidad taxonómica detectada por *metabarcoding*. Sin embargo, el conjunto de genomas reconstruidos en este trabajo representa un avance significativo en el estudio del microbioma del GdM, al contextualizar funcionalmente la información genética en unidades genómicas confiables. Asimismo, la reconstrucción de MAGs también ofrece ventajas frente a otros enfoques comúnmente empleados para el análisis de secuencias *shotgun*, como son la asignación y anotación directa de lecturas o contigs, como por ejemplo i) una mayor confiabilidad en la taxonomía obtenida, ii) la detección de organismos novedosos ya que utiliza múltiples señales genómicas en el proceso de asignación, iii) acceso al estudio de la organización espacial de genes (como operones o islas genómicas), y iv) la eliminación de anotaciones espurias, comunes en ambientes muy diversos. En resumen, aunque los MAGs podrían no capturar toda la diversidad o potencial metabólico de un ecosistema, si proporcionan una visión más precisa.

4.2.2 *Las funciones de las comunidades de bacterias y arqueas de la zona profunda del GdM son potencialmente heterótrofas o mixótrofas*

4.2.2.1 Los MAGs presentaron un potencial metabólico orientado principalmente a la heterotrofia, y en menor medida a la mixotrofia

El potencial metabólico de los MAGs reveló el predominio de tres procesos del ciclo del carbono, la oxidación de carbono orgánico, oxidación de acetato y fermentación (Figura 28b). Lo que indica que posiblemente los microorganismos más abundantes de la zona batipelágica del GdM son principalmente quimioheterótrofos, con capacidad para degradar compuestos orgánicos, como aminoácidos, ácidos grasos y aromáticos (como fenol, catecol, protocatecolato y benceno). Dichas biomoléculas están presentes principalmente en la materia orgánica particulada que se exporta a aguas profundas ([Baumas & Bizic, 2024](#); [Shen et al., 2025](#); [Stukel et al., 2021](#)). Asimismo, la coexistencia de genes para la oxidación aeróbica del carbono y la fermentación sugiere que estos microorganismos tienen versatilidad metabólica. Este fenómeno se ha reportado en otras regiones del océano profundo ([Herndl et al., 2023](#)), posibilitando la adaptación de los mismos a cambios en la disponibilidad de oxígeno. Por ejemplo, en ambientes con alta actividad microbiana como es dentro de partículas orgánicas, donde el oxígeno puede agotarse localmente ([Ploug, 2001](#)), la fermentación actuaría como un mecanismo alternativo para la obtención de energía.

Aunque el tipo metabólico heterótrofo fue el más representado entre los MAGs, tres de ellos mostraron la capacidad autótrofa para fijar carbono inorgánico (Figura 28b). Estos pertenecieron a los géneros *Arctic96AD-7* (filo SAR324), *DUCF01* y *Pseudoceanicola* (filo Pseudomonadota), con genes para la RuBisCO (formas I y II) del ciclo de Calvin-Benson-Bassham. La presencia de microorganismos mixotróficos (autótrofos-heterótrofos) en las aguas profundas del océano, es un fenómeno recientemente reportado en MAGs ([Acinas et al., 2021](#)), por lo que también podría ser nuestro caso, ya que al mismo tiempo todos nuestros MAGs mostraron el potencial para la oxidación del carbono. Además, [Acinas et al. \(2021\)](#) también identificaron al género *Arctic96AD-7* con genes para la RuBisCO y como posible mixótrofo.

Por otro lado, no hubo presencia de genes relacionados con la metanogénesis en los MAGs pero sí de genes relacionados con la metanotrofia, en al menos el 25% de los MAGs. Estos fueron los genes *mmoBD* y *mcrABC* en géneros de distintos filos (Pseudomonadota, SAR324, Marinisomatota, Bdellovibrionota, Thermoplasmata y Gemmatimonadota). Su actividad conlleva a la transformación y reciclaje del metano, un potente gas de efecto invernadero, oxidándolo a dióxido de carbono, y haciéndolo disponible para ser utilizado por otros microorganismos. La presencia de este tipo de metabolismo en el GdM subraya su importancia en el océano profundo y su papel en el control del metano, tal como se ha sugerido previamente ([Acinas et al., 2021](#); [Fenibo et al., 2023](#)).

4.2.2.2 Las rutas de retención de nitrógeno en el ecosistema predominaron en los MAGs

El conjunto de MAGs reveló un ciclo del nitrógeno truncado en todas las profundidades analizadas (Figura 28a), con ausencia de genes clave para procesos como la fijación de nitrógeno (*nifHK*), anammox (*hzsABC/hdh*), reducción de óxido nitroso (*nosZ*) y oxidación del nitrito (*nxrAB*).

Entre las rutas detectadas destacan, la reducción de nitrito a amonio (DNRA, por *dissimilatory nitrate reduction*) y la reducción de óxido nítrico (asociada a la desnitrificación). La proporción de genes relacionados con la DNRA duplicó a los de reducción de óxido nítrico (>24% frente a <10%, respectivamente, Figura 28a), lo que sugiere que los procesos de retención de nitrógeno en las profundidades estudiadas podrían predominar sobre las pérdidas en forma de N₂. Curiosamente, este patrón coincide con observaciones en comunidades de bacterias y arqueas de ambientes marinos profundos, aunque en esos casos la DNRA se registró principalmente en la fracción particulada (asociada a materia orgánica) y menos en la fracción de vida libre ([Acinas et al., 2021](#)). Esto es coherente, ya que ambas rutas metabólicas suelen ocurrir en ambientes reductores ([Pandey et al., 2020](#)), como

microhábitats anóxicos dentro de partículas en degradación. La presencia de genes de DNRA en la fracción de vida libre en nuestro estudio podría deberse a que estos genes pueden estar presentes en microorganismos en ambientes oxigenados, pero su actividad principal probablemente se desarrolla en microhábitats con condiciones anaeróbicas o microanóxicas (Pajares & Ramos, 2019).

Por otro lado, esperábamos una mayor representación del grupo taxonómico Nitrosopumilales (donde se encuentran las AOA) en los MAGs, junto con los genes *amoABC* responsables de la oxidación de amonio a nitrito (proceso involucrado en la nitrificación). Esto se basó en los resultados de *metabarcoding*, que mostraron una abundancia promedio de ~26% para este grupo (Figura 4). Sin embargo, ni en los MAGs ni en la asignación directa de lecturas mediante Kraken2/Braken se detectó una presencia notable de Nitrosopumilales (tres MAGs, Figura 25; y <4%, Figura 26, respectivamente). En su lugar, identificamos tres genomas de bacterias pertenecientes a los géneros *Sediminibacterium* (filo *Bacteroidota*) y Arctic96AD-7 (filo *SAR324*) con genes *amoABC*. Este hallazgo es inusual, ya que la oxidación de amonio en el océano está predominantemente asociada a arqueas (AOA) más que a bacterias, aunque existen algunos grupos de Bacterias Oxidantes de amonio pero dentro de otros grupos taxonómicos, como miembros de las beta- y gamma-proteobacterias (Zheng et al., 2024).

La presencia de *amoABC* en filios como *Bacteroidota* y *SAR324* podría sugerir una diversidad funcional no caracterizada o posibles transferencias horizontales de genes en estos linajes. Por otro lado, la ausencia de un mayor porcentaje de MAGs o lecturas asociadas a Nitrosopumilales podría deberse a algunas de las limitaciones metodológicas previamente mencionadas. En particular, al contenido de GC (como se comentó previamente), o a que la mayoría de las AOA marinas son poco conocidas, esto evidenció en el análisis de *metabarcoding*, donde solo un 4% de los ASVs (Figura 14) logró asignarse a nivel de género. Esto indica que las bases de datos actuales podrían carecer de información genómica representativa de estos grupos.

4.2.2.3 El ciclo del azufre en el GdM refleja una red metabólica mayormente orientada a la oxidación de compuestos sulfurados reducidos

Los MAGs obtenidos en este estudio revelaron una marcada predominancia de genes asociados a la oxidación de compuestos sulfurados, como sulfuros (H_2S), tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$), sulfito (SO_3^{2-}) y, en mayor proporción, para azufre elemental (S^0) (>50% de los MAGs en todas las profundidades,

Figura 28c). Esto sugiere que la oxidación de azufre elemental podría ser un proceso central en el ciclo del azufre en las comunidades microbianas del GdM. De hecho, la oxidación en general de compuestos sulfurados es un proceso importante para la producción de energía en ambientes oxigenados del océano profundo ([Herndl et al., 2023](#)), ya que permite a los microbios generar potencial reductor que es aprovechado en rutas metabólicas como el ciclo de Calvin-Benson-Bassham por microorganismos quimioautótrofos. Para lo cual, la principal fuente de estos compuestos sulfurados viene de la actividad microbiana que descompone materia orgánica sulfurada ([Landa et al., 2019](#)).

En nuestro caso los genes relacionados a este ciclo pertenecieron a genomas de diversos géneros de los filos Pseudomonadota, Marinisomatota y SAR324 (

Figura 27 y Tabla 7), los cuales ya han sido reportados como grupos involucrados en el ciclo del azufre en aguas profundas del océano ([Landa et al., 2019](#); [Sun et al., 2023](#)). Por otro lado, la versatilidad metabólica del género *Thioglobus* en la profundidad de FONDO (capaz de realizar 5 pasos del ciclo, tanto de oxidación como reducción, y de fijar carbono;

Figura 27 y

Figura 28), resalta nuevamente la importancia de los mixótrofos en ambientes profundos. Este género ya ha sido documentado con capacidad para acoplar la oxidación de azufre y fijación de carbono en zonas de ventilas hidrotermales ([Li et al., 2024](#)), y al mismo tiempo el potencial para reducir nitrato en condiciones de poco oxígeno ([Morris & Mino, 2024](#)).

En conjunto, los resultados subrayan que el ciclo del azufre en las aguas profundas del GdM está impulsado por una comunidad microbiana adaptada a explotar múltiples estados redox del azufre, con implicaciones para el reciclaje de nutrientes y la detoxificación de sulfuros en un ecosistema sujeto a presiones naturales como filtraciones de hidrocarburos y actividad hidrotermal ([Fisher et al., 2007](#); [MacDonald et al., 1990](#)).

4.2.2.4 El potencial de biodegradación de hidrocarburos en los MAGs no refleja la taxonomía microbiana encontrada

La identificación de géneros de bacterias asociados a la degradación de hidrocarburos, como *Alteromonas*, *Acinetobacter*, *Idiomarina*, y *Pseudoalteromonas* en todas las profundidades estudiadas (ZMOR, 1000 m y

FONDO, Figura 25), sugiere que estos microorganismos poseen adaptaciones a condiciones ambientales variables, como la disponibilidad de oxígeno, presión, temperatura y concentración de nutrientes. Por ejemplo, la presencia recurrente de *Alteromonas* en todas las profundidades, junto con su capacidad para degradar hidrocarburos (Rosenberg, 2013), materia orgánica recalcitrante (Bartual et al., 2005; Ivars-Martinez et al., 2008), y nieve marina de origen fitoplanctónica (Hou et al., 2025), respalda su papel como un grupo versátil de degradadores en el GdM. Asimismo, la detección de una especie de *Pseudoalteromonas*, *P. lipolytica_A* en la ZMOR y 1000 m de profundidad (Figura 25), un organismo con capacidad para degradar derivados del petróleo como el poliestireno y polipropileno, en condiciones de aguas profundas y frías (Lv et al., 2024), apunta a que dentro de la comunidad de bacterias a esas profundidades del GdM existe el potencial para la biodegradación del plástico.

Por otro lado, la anotación funcional mediante prokka/METABOLIC-G reveló la presencia del gen *catA* (que codifica la catecol 1,2-dioxigenasa) en géneros como *Marinobacter*, *Alteromonas*, *Casp-alpha2* y *Acinetobacter* (

Figura 27 y Tabla 7), lo que indica su capacidad potencial para degradar hidrocarburos aromáticos mediante la ruptura del anillo de catecol, un metabolito derivado de compuestos como el benceno y el tolueno (Schomburg y Stephan, 1994). Sin embargo, la ausencia de otros genes clave en las rutas de degradación de hidrocarburos, como *alkB* (que codifica la alcano 1-monooxigenasa, una enzima que oxida alcanos lineales, hidrocarburos saturados) y *almA* (que codifica una oxigenasa de flavina que oxida alcanos de cadena larga, C20–C36), en los resultados de METABOLIC-G contrasta con la abundancia taxonómica de géneros conocidos por albergar estos genes, como *Alcanivorax* y *Marinobacter* (Peeb et al., 2022). Esta discrepancia podría atribuirse a sesgos en las bases de datos de referencia utilizadas (por ejemplo, KEGG, Pfam, y TIGRFAMs), las cuales priorizan genes ampliamente caracterizados en modelos de laboratorio, lo que podría sub-representar variantes novedosas de ambientes extremos, como el océano profundo.

Este estudio ofrece una visión general del potencial metabólico de los MAGs que se pudieron recuperar de la zona profunda del GdM, destacando su versatilidad metabólica en ciclos biogeoquímicos y exponiendo sus limitaciones. La presencia de géneros poco estudiados, como son la mayoría de los mostrados en la Figura 25, sugiere que estos albergan valiosa información aún por explorar. Por lo que esta colección de MAGs representa un recurso genómico importante para futuros estudios.

Capítulo 5. Conclusiones

5.1 Subtema 1: De la caracterización de las comunidades de bacterias y arqueas, mediante *metabarcoding*

El estudio por *metabarcoding* de las comunidades bacterianas y arqueales en las zonas meso y batipelágicas del sur del GdM aporta un punto de referencia para comprender su posible papel en los ciclos biogeoquímicos y su respuesta a dinámicas ambientales de la región. A continuación, se resumen las principales conclusiones derivadas de esta investigación:

Las comunidades microbianas mostraron una estratificación vertical, vinculada a propiedades fisicoquímicas de las masas de agua (TACW, AAIW, NADW). Los taxones dominantes incluyeron arqueas del orden *Nitrosopumilales* (Thermoproteota) en la zona mesopelágica, asociadas a la oxidación de amonio, y bacterias como *Alteromonadales* (Gammaproteobacteria) en la batipelágica, vinculados a la degradación de materia orgánica recalcitrante o hidrocarburos. Sugiriendo adaptaciones metabólicas a gradientes de oxígeno, nutrientes y disponibilidad de sustratos.

La zona batipelágica exhibió la mayor heterogeneidad taxonómica, con comunidades posiblemente influenciadas por la proximidad al lecho marino y la existencia de microhábitats, como filtraciones de hidrocarburos. Taxones como *Oceanospirillales*, *Rhodobacterales* y *Methanofastidiosales* sugieren nichos especializados en la degradación de hidrocarburos, destacando la importancia ecológica de estas zonas poco exploradas.

La profundidad, la salinidad absoluta, el CAO y la temperatura conservativa fueron los principales predictores de la variabilidad de las comunidades. La ZMOR, aunque no hipóxica, albergó una alta diversidad, mientras que la batipelágica mostró menor riqueza pero mayor dominancia de taxones específicos, respaldando la hipótesis de especialización funcional en ambientes oligotróficos.

A pesar de la variación taxonómica vertical, el potencial metabólico predicho fue homogéneo, con pocas rutas diferencialmente abundantes (p. ej., metanogénesis en FONDO y degradación de sulfolípidos en ZMOR). Esto sugiere una redundancia funcional que garantiza la estabilidad de los ciclos biogeoquímicos ante cambios ambientales.

Las arqueas representaron el 37.5% de la comunidad total, dominadas por filotipos desconocidos (Nitrosopumilales, Marine Group II/III, Woesearchaeales). Su distribución vertical y asociación con parámetros como el CAO resaltan su papel en el reciclaje de nitrógeno y carbono, así como en la adaptación a ambientes con recursos limitados

5.2 Subtema 2: De la caracterización del potencial funcional de bacterias y arqueas a partir de MAGs

Los MAGs recuperados se correspondieron principalmente a bacterias (90%), con predominio del filo Pseudomonadota (41.8%) en todas las profundidades. En contraste, las arqueas representaron solo el 10% de los MAGs.

Los MAGs revelaron predominio de metabolismos heterótrofos basados en la oxidación de carbono orgánico (aminoácidos, ácidos grasos y compuestos aromáticos), así como un grupo menor con capacidad mixotrófica que combina genes de oxidación de carbono orgánico y la fijación autotrófica (por medio de la RuBisCO), sugiriendo la adaptación a fluctuaciones en la disponibilidad de recursos.

La mayoría de los MAGs que mostraron genes relacionados con el ciclo del nitrógeno lo hicieron principalmente hacia procesos de retención de nitrógeno (nitrificación), en lugar de pérdida mediante N_2 o N_2O .

El ciclo del azufre estuvo dominado por genes para la oxidación de compuestos reducidos sulfurados (S^0 , $S_2O_3^{2-}$).

Literatura_[CM1] **citada**

- Abe, M., Sakai, M., Kanaly, R. A., & Mori, J. F. (2025). Identification of a putative novel polycyclic aromatic hydrocarbon-biodegrading gene cluster in a marine Roseobacteraceae bacterium *Sagittula* sp. MA-2. *Microbiology Spectrum*, 13(1), e0107424. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01074-24>
- About, E. M., Burghal, A., & Laftah, A. H. (2021). Genetic identification of hydrocarbons degrading bacteria isolated from oily sludge? And petroleum-contaminated soil in Basrah City, Iraq. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(4). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220441>
- Achberger, A. M., Doyle, S. M., Mills, M. I., Holmes, C. P., Quigg, A., & Sylvan, J. B. (2021). Bacteria-Oil Microaggregates Are an Important Mechanism for Hydrocarbon Degradation in the Marine Water Column. *mSystems*, 6(5). <https://doi.org/10.1128/msystems.01105-21>
- Acinas, S. G., Sánchez, P., Salazar, G., Cornejo-Castillo, F. M., Sebastián, M., Logares, R., Royo-Llonch, M., Paoli, L., Sunagawa, S., Hingamp, P., Ogata, H., Lima-Mendez, G., Roux, S., González, J. M., Arrieta, J. M., Alam, I. S., Kamau, A., Bowler, C., Raes, J., Gasol, J. M. (2021). Deep ocean metagenomes provide insight into the metabolic architecture of bathypelagic microbial communities. *Communications Biology*, 4(1), 604. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02112-2>
- Agogué, H., Lamy, D., Neal, P. R., Sogin, M. L., & Herndl, G. J. (2011). Water mass-specificity of bacterial communities in the North Atlantic revealed by massively parallel sequencing. *Molecular Ecology*, 20(2), 258-274. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04932.x>
- Aitchison, J. (1986). The Statistical Analysis of Compositional Data. *The Statistical Analysis of Compositional Data*, 44(2), 139-177. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-4109-0>
- Al-Dossary, M. A., Abood, S. A., & Al-Saad, H. T. (2021). Effects of physicochemical factors on PAH degradation by *Planomicrobium alkanoclasticum*. *Remediation*, 31(2), 29-37. <https://doi.org/10.1002/rem.21673>
- Allison, S. D., & Martiny, J. B. H. (2008). Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(supplement_1), 11512-11519. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801925105>
- Alneberg, J., Bjarnason, B. S., De Bruijn, I., Schirmer, M., Quick, J., Ijaz, U. Z., Lahti, L., Loman, N. J., Andersson, A. F., & Quince, C. (2014). Binning metagenomic contigs by coverage and composition.

Nature Methods, 11(11), 1144-1146. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3103>

- Amann, R. I., Ludwig, W., & Schleifer, K. H. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, 59(1), 143-169. <https://doi.org/10.1128/mr.59.1.143-169.1995>
- Amon, R. M. W., Ochoa, J., Candela, J., Herzka, S. Z., Pérez-Brunius, P., Sheinbaum, J., Camacho Ibar, V. F., Herguera, J. C., Hernández Ayon, M., Key, R. M., & Molodtsov, S. (2023). Ventilation of the deep Gulf of Mexico and potential insights to the Atlantic Meridional Overturning Circulation. *Science Advances*, 9(11), eade1685. <https://doi.org/10.1126/sciadv.ade1685>
- Andrews, S., Krueger, F., Seifert-Pichon, A., Biggins, F., & Wingett, S. (2015). *FastQC. A quality control tool for high throughput sequence data*. Babraham Bioinformatics. Babraham Institute. <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>
- Arbizu, P. M. (2020). *PairwiseAdonis: Pairwise multilevel comparison using adonis*. <https://github.com/pmartinezarbizu/pairwiseAdonis>
- Bacosa, H. P., Liu, Z., & Erdner, D. L. (2015). Natural Sunlight Shapes Crude Oil-Degrading Bacterial Communities in Northern Gulf of Mexico Surface Waters. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01325>
- Baltar, F., Arístegui, J., Gasol, J. M., Sintès, E., & Herndl, G. J. (2009). Evidence of prokaryotic metabolism on suspended particulate organic matter in the dark waters of the subtropical North Atlantic. *Limnology and Oceanography*, 54(1), 182-193. <https://doi.org/10.4319/lo.2009.54.1.0182>
- Bartual, S. G., López-López, A., Onyshchenko, O., Rodríguez-Valera, F., & Stal, L. (2005). Genetic analysis of housekeeping genes reveals a deep-sea ecotype of *Alteromonas macleodii* in the Mediterranean Sea. *Environmental Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00733.x>
- Baumas, C., & Bizic, M. (2024). A focus on different types of organic matter particles and their significance in the open ocean carbon cycle. *Progress in Oceanography*, 224, 103233. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2024.103233>
- Bertrand, J.-C., Caumette, P., Lebaron, P., Matherson, R., Normand, P., & Télesphore, S.-N. (2015). Environmental Microbiology: Fundamental and Applications: Microbial Ecology. *Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications*. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-9118-2>
- Bertrand, J.-C., Normand, P., Ollivier, B., & Sime-Ngando, T. (Eds.). (2018). *Prokaryotes and Evolution*.

Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-99784-1>

- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* (Oxford, England), 30(15), 2114-2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Bonatesta, E., Horejš, C., Horejš-Kainrath, H., & Bodenhofer, U. (2015). *Msa An R Package for Multiple Sequence Alignment Software Manual*. 1-2. <https://10.1093/bioinformatics/btv494>
- Brakstad, O. G., & Bonaunet, K. (2006). Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons in Seawater at Low Temperatures (0–5 °C) and Bacterial Communities Associated with Degradation. *Biodegradation*, 17(1), 71-82. <https://doi.org/10.1007/s10532-005-3342-8>
- Bristow, L. A., Sarode, N., Cartee, J., Caro-Quintero, A., Thamdrup, B., & Stewart, F. J. (2015). Biogeochemical and metagenomic analysis of nitrite accumulation in the Gulf of Mexico hypoxic zone. *Limnology and Oceanography*, 60(5), 1733-1750. <https://doi.org/10.1002/lno.10130>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Campbell, L. G., Thrash, J. C., Rabalais, N. N., & Mason, O. U. (2019). Extent of the annual Gulf of Mexico hypoxic zone influences microbial community structure. *PloS one*, 14(4), e0209055. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209055>
- Candela, J., Ochoa, J., Sheinbaum, J., López, M., Pérez-Brunius, P., Tenreiro, M., Pallàs-Sanz, E., Athié, G., & Arriaza-Oliveros, L. (2019). The flow through the gulf of Mexico. *Journal of Physical Oceanography*, 49(6), 1381-1401. <https://doi.org/10.1175/JPO-D-18-0189.1>
- Cao, J., Lai, Q., Yuan, J., & Shao, Z. (2015). Genomic and metabolic analysis of fluoranthene degradation pathway in *Celeribacter indicus* P73T. *Scientific Reports*, 5(1), 7741. <https://doi.org/10.1038/srep07741>
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., Fierer, N., & Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 Suppl(Supplement 1), 4516-4522. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000080107>

- Cappello, S., Volta, A., Santisi, S., Morici, C., Mancini, G., Quatrini, P., Genovese, M., Yakimov, M. M., & Torregrossa, M. (2016). Oil-degrading bacteria from a membrane bioreactor (BF-MBR) system for treatment of saline oily waste: Isolation, identification and characterization of the biotechnological potential. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *110*, 235-244. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.12.028>
- Castelle, C. J., & Banfield, J. F. (2018). Major New Microbial Groups Expand Diversity and Alter our Understanding of the Tree of Life. *Cell*, *172*(6), 1181-1197. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.016>
- Cavan, E. L., Laurenceau-Cornec, E. C., Bressac, M., & Boyd, P. W. (2019). Exploring the ecology of the mesopelagic biological pump. *Progress in Oceanography*, *176*, 102125. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2019.102125>
- Cavicchioli, R., Ripple, W. J., Timmis, K. N., Azam, F., Bakken, L. R., Baylis, M., Behrenfeld, M. J., Boetius, A., Boyd, P. W., Classen, A. T., Crowther, T. W., Danovaro, R., Foreman, C. M., Huisman, J., Hutchins, D. A., Jansson, J. K., Karl, D. M., Koskella, B., Mark Welch, D. B., ... Webster, N. S. (2019). Scientists' warning to humanity: Microorganisms and climate change. *Nature Reviews Microbiology*, *17*(9), 569-586. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0222-5>
- Cerqueda-García, D., García-Maldonado, J. Q., Aguirre-Macedo, L., & García-Cruz, U. (2020). A succession of marine bacterial communities in batch reactor experiments during the degradation of five different petroleum types. *Marine Pollution Bulletin*, *150*. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110775>
- Chakraborty, R., Borglin, S. E., Dubinsky, E. A., Andersen, G. L., & Hazen, T. C. (2012). Microbial Response to the MC-252 Oil and Corexit 9500 in the Gulf of Mexico. *Frontiers in Microbiology*, *3*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00357>
- Chen, H., Wang, B., Cai, L., Zhang, Y., Shu, Y., Liu, W., Leng, X., Zhai, J., Niu, B., Zhou, Q., & Cao, S. (2024). The performance of homopolymer detection using dichromatic and tetrachromatic fluorogenic next-generation sequencing platforms. *BMC Genomics*, *25*(1), 542. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10474-0>
- Chklovski, A., Parks, D. H., Woodcroft, B. J., & Tyson, G. W. (2023). CheckM2: A rapid, scalable and accurate tool for assessing microbial genome quality using machine learning. *Nature Methods*, *20*(8), 1203-1212. <https://doi.org/10.1038/s41592-023-01940-w>
- Claus, H. (2010). Prokaryotic Cell Wall Compounds. *Prokaryotic Cell Wall Compounds*, December. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-05062-6>

- Csardi, G., & Nepusz, T. (2006). The Igraph Software Package for Complex Network Research. *InterJournal, Complex Systems*, 1695, 1-9. [doi:10.5281/zenodo.7682609](https://doi.org/10.5281/zenodo.7682609)
- Cui, Z., Lai, Q., Dong, C., & Shao, Z. (2008). Biodiversity of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria from deep sea sediments of the Middle Atlantic Ridge. *Environmental Microbiology*, 10(8), 2138-2149. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01637.x>
- Davis, N. M., Proctor, D. M., Holmes, S. P., Relman, D. A., & Callahan, B. J. (2018). Simple statistical identification and removal of contaminant sequences in marker-gene and metagenomics data. *Microbiome*, 6(1), 226. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0605-2>
- Deng, M.-C., Li, J., Liang, F.-R., Yi, M., Xu, X.-M., Yuan, J.-P., Peng, J., Wu, C.-F., & Wang, J.-H. (2014). Isolation and characterization of a novel hydrocarbon-degrading bacterium *Achromobacter* sp. HZ01 from the crude oil-contaminated seawater at the Daya Bay, southern China. *Marine Pollution Bulletin*, 83(1), 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.04.018>
- Deschamps, P., Zivanovic, Y., Moreira, D., Rodriguez-Valera, F., & Lopez-García, P. (2014). Pangenome evidence for extensive interdomain horizontal transfer affecting lineage core and shell genes in uncultured planktonic thaumarchaeota and euryarchaeota. *Genome Biology and Evolution*, 6(7), 1549-1563. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu127>
- Díaz, E., Jiménez, J. I., & Nogales, J. (2013). Aerobic degradation of aromatic compounds. *Current Opinion in Biotechnology*, 24(3), 431-442. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.10.010>
- Dickson, R. R., & Brown, J. (1994). The production of North Atlantic Deep Water: Sources, rates, and pathways. *Journal of Geophysical Research*, 99(C6), 12319-12341. <https://doi.org/10.1029/94jc00530>
- Dong, X., Greening, C., Rattray, J. E., Chakraborty, A., Chuvochina, M., Mayumi, D., Dolfing, J., Li, C., Brooks, J. M., Bernard, B. B., Groves, R. A., Lewis, I. A., & Hubert, C. R. J. (2019). Metabolic potential of uncultured bacteria and archaea associated with petroleum seepage in deep-sea sediments. *Nature Communications*, 10(1), 1816. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09747-0>
- Douglas, G. M., Maffei, V. J., Zaneveld, J., Yurgel, S. N., Brown, J. R., Taylor, C. M., Huttenhower, C., & Langille, M. G. I. (2019). PICRUSt2: An improved and extensible approach for metagenome inference. *bioRxiv*, June, 1-42. <https://doi.org/10.1101/672295>
- Dubinsky, E. A., Conrad, M. E., Chakraborty, R., Bill, M., Borglin, S. E., Hollibaugh, J. T., Mason, O. U., Piceno, Y. M., Reid, F. C., Stringfellow, W. T., Tom, L. M., Hazen, T. C., & Andersen, G. L. (2013). Succession of Hydrocarbon-Degrading Bacteria in the Aftermath of the *Deepwater Horizon* Oil Spill in the Gulf

of Mexico. *Environmental Science & Technology*, 47(19), 10860-10867. <https://doi.org/10.1021/es401676y>

- Dyksterhouse, S. E., Gray, J. P., Herwig, R. P., & Staley, J. T. (1995). An Aromatic Hydrocarbon-Degrading Bacterium from Marine Sediments. *International journal of systematic bacteriology* (116-123). International Union of Microbiological Societies.
- Easson, C. G., & Lopez, J. V. (2018). Depth-Dependent Environmental Drivers of Microbial Plankton Community Structure in the Northern Gulf of Mexico. *Frontiers in microbiology*, 9, 3175, 1-13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03175>
- Epstein, S. S. S. (2013). The phenomenon of microbial uncultivability. *Current Opinion in Microbiology*, 16(5), 636-642. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.08.003>
- Eren, A. M., Maignien, L., Sul, W. J., Murphy, L. G., Grim, S. L., Morrison, H. G., & Sogin, M. L. (2013). Oligotyping: Differentiating between closely related microbial taxa using 16S rRNA gene data. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(12), 1111-1119. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12114>
- Fasca, H., Castilho, L. V. A. de, Castilho, J. F. M. de, Pasqualino, I. P., Alvarez, V. M., Jurelevicius, D. de A., & Seldin, L. (2018). Response of marine bacteria to oil contamination and to high pressure and low temperature deep sea conditions. *MicrobiologyOpen*, 7(2), 1-10. <https://doi.org/10.1002/mbo3.550>
- Félix-Bermúdez, A., Delgadillo-Hinojosa, F., Lares, M. L., Torres-Delgado, E. V., Huerta-Díaz, M. A., Tovar-Sanchez, A., & Camacho-Ibar, V. F. (2023). Spatial variability of dissolved nickel is enhanced by mesoscale dynamics in the Gulf of Mexico. *Frontiers in Marine Science*, 9, 1-23. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1036331>
- Fenibo, E. O., Selvarajan, R., Wang, H., Wang, Y., & Abia, A. L. K. (2023). Untapped talents: Insight into the ecological significance of methanotrophs and its prospects. *Science of The Total Environment*, 903, 166145. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166145>
- Fernandes, A. D., Macklaim, J. M., Linn, T. G., Reid, G., & Gloor, G. B. (2013). ANOVA-Like Differential Expression (ALDEx) Analysis for Mixed Population RNA-Seq. *PLoS ONE*, 8(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067019>
- Fisher, C., Roberts, H., Cordes, E., & Bernard, B. (2007). Cold Seeps and Associated Communities of the Gulf of Mexico. *Oceanography*, 20(4), 118-129. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2007.12>

- Fragoso Ados Santos, H., Duarte, G. A. S., Rachid, C. T. D. C., Chaloub, R. M., Calderon, E. N., Marangoni, L. F. D. B., Bianchini, A., Nudi, A. H., Do Carmo, F. L., Van Elsas, J. D., Rosado, A. S., Castro, C. B. E., & Peixoto, R. S. (2015). Impact of oil spills on coral reefs can be reduced by bioremediation using probiotic microbiota. *Scientific Reports*, 5(1), 18268. <https://doi.org/10.1038/srep18268>
- Galand, P. E., Casamayor, E. O., Kirchman, D. L., Potvin, M., & Lovejoy, C. (2009). Unique archaeal assemblages in the Arctic Ocean unveiled by massively parallel tag sequencing Subject Category: Microbial ecology and functional diversity of natural habitats. *The ISME Journal*, 3, 860-869. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.23>
- Garcia, H. E., & Gordon, L. I. (1992). Oxygen solubility in seawater: Better fitting equations. *Limnology and Oceanography*, 37(6), 1307-1312. <https://doi.org/10.4319/lo.1992.37.6.1307>
- Gardner, W. D., Richardson, M. J., Mishonov, A. V., Bean, D. A., & Herguera, J. C. (2022). Nepheloid layers in the deep Gulf of Mexico. *Marine Geology*, 454. <https://doi.org/10.1016/j.margeo.2022.106950>
- Gauthier, M., Lafay, B., Christen, R., Fernandez Linares, L., Acquaviva, M., Bonin, P., & Bertrand, J.-C. (1992). *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* gen. Nov., sp. Nov., a New, Extremely Halotolerant, Hydrocarbon-Degrading Marine Bacterium. *International journal of systematic bacteriology*, 42, 568-576. <https://doi.org/10.1099/00207713-42-4-568>
- Gloor, G. B., Macklaim, J. M., & Fernandes, A. D. (2016). Displaying Variation in Large Datasets: Plotting a Visual Summary of Effect Sizes. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 25(3), 971-979. <https://doi.org/10.1080/10618600.2015.1131161>
- Godoy-Lozano, E. E., Escobar-Zepeda, A., Raggi, L., Merino, E., Gutierrez-Rios, R. M., Juarez, K., Segovia, L., Licea-Navarro, A. F., Gracia, A., Sanchez-Flores, A., & Pardo-Lopez, L. (2018). Bacterial Diversity and the Geochemical Landscape in the Southwestern Gulf of Mexico. *Frontiers in microbiology*, 9, 2528. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02528>
- Golyshin, P. N. (2002). Oleiphilaceae fam. Nov., to include *Oleiphilus messinensis* gen. Nov., sp. Nov., a novel marine bacterium that obligately utilizes hydrocarbons. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 52(3), 901-911. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.01890-0>
- Gómez-Letona, M., Arístegui, J., Hernández-Hernández, N., Álvarez-Salgado, X. A., Álvarez, M., Delgadillo, E., Pérez-Lorenzo, M., Teira, E., Hernández-León, S., & Sebastián, M. (2022). Deep ocean prokaryotes and fluorescent dissolved organic matter reflect the history of the water masses across the Atlantic Ocean. *Progress in Oceanography*, 205(November 2021). <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2022.102819>

- Gontikaki, E., Potts, L. D., Anderson, J. A., & Witte, U. (2018). Hydrocarbon-degrading bacteria in deep-water subarctic sediments (Faroe-Shetland Channel). *Journal of Applied Microbiology*, 125(4), 1040-1053. <https://doi.org/10.1111/jam.14030>
- Grossi, V., Mollex, D., Vinçon-Laugier, A., Hakil, F., Pacton, M., & Cravo-Laureau, C. (2015). Mono- and dialkyl glycerol ether lipids in anaerobic bacteria: Biosynthetic insights from the mesophilic sulfate reducer *Desulfatibacillum alkenivorans* PF2803T. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(9), 3157-3168. <https://doi.org/10.1128/AEM.03794-14>
- Grote, J., Thrash, J. C., Huggett, M. J., Landry, Z. C., Carini, P., Giovannoni, S. J., & Rappé, M. S. (2012). Streamlining and Core Genome Conservation among Highly Divergent Members of the SAR11 Clade. *mBio*, 3(5), e00252-12. <https://doi.org/10.1128/mBio.00252-12>
- Guerrero, A., Licea, A. F., & Lizárraga-Partida, M. L. (2022). Metagenomic analysis among water masses and sediments from the Southern Gulf of Mexico. *Frontiers in Marine Science*, 9, 2146. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1020136>
- Gutierrez, T., Berry, D., Yang, T., Mishamandani, S., McKay, L., Teske, A., & Aitken, M. D. (2013). Role of Bacterial Exopolysaccharides (EPS) in the Fate of the Oil Released during the Deepwater Horizon Oil Spill. *PLoS ONE*, 8(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067717>
- Gutierrez, T., Singleton, D. R., Berry, D., Yang, T., Aitken, M. D., & Teske, A. (2013). Hydrocarbon-degrading bacteria enriched by the Deepwater Horizon oil spill identified by cultivation and DNA-SIP. *ISME Journal*, 7(11), 2091-2104. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.98>
- Hamilton, P., & Lugo-Fernandez, A. (2001). Observations of high speed deep currents in the Northern Gulf of Mexico. *Geophysical Research Letters*, 28(14), 2867-2870. <https://doi.org/10.1029/2001GL013039>
- Haro-Moreno, J. M., Rodriguez-Valera, F., López-García, P., Moreira, D., & Martin-Cuadrado, A.-B. (2017). New insights into marine group III Euryarchaeota, from dark to light. *The ISME Journal*, 11, 1102-1117. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.188>
- Harwati, T. U., Kasai, Y., Kodama, Y., Susilaningih, D., & Watanabe, K. (2009). *Tropicibacter naphthalenivorans* gen. Nov., sp. Nov., a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from Semarang Port in Indonesia. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(Pt 2), 392-396. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65821-0>
- Hazen, T. C., Dubinsky, E. A., DeSantis, T. Z., Andersen, G. L., Piceno, Y. M., Singh, N., Jansson, J. K., Probst, A., Borglin, S. E., Fortney, J. L., Stringfellow, W. T., Bill, M., Conrad, M. E., Tom, L. M., Chavarria, K.

- L., Alusi, T. R., Lamendella, R., Joyner, D. C., Spier, C., ... Mason, O. U. (2010). Deep-Sea Oil Plume Enriches Indigenous Oil-Degrading Bacteria. *Science*, 330(6001), 204-208. <https://doi.org/10.1126/science.1195979>
- Hedlund, B. P., Geiselbrecht, A. D., Bair, T. J., & Staley, J. T. (1999). Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Degradation by a New Marine Bacterium, *Neptunomonas naphthovorans* gen. Nov., sp. Nov. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(1), 251-259. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.1.251-259.1999>
- Herndl, G. J., Bayer, B., Baltar, F., & Reinthaler, T. (2023). Prokaryotic Life in the Deep Ocean's Water Column. *Annual Review of Marine Science*, 15(1), 461-483. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-032122-115655>
- Herzka, S. Z., Álvarez, A. Z., Alfonso, R., Álvarez, Z., Peters, E. M., Cárdenas, G. H., Carlos, J., García, H., Yamily, M., Chan, C., Arias, A. P., & Cartografía, T. (2021). *Atlas de Líneas Base Ambiental del Golfo de México: Introducción*.
- Hingamp, P., Grimsley, N., Acinas, S. G., Clerissi, C., Subirana, L., Poulain, J., Ferrera, I., Sarmiento, H., Villar, E., Lima-Mendez, G., Faust, K., Sunagawa, S., Claverie, J.-M., Moreau, H., Desdevises, Y., Bork, P., Raes, J., de Vargas, C., Karsenti, E., & Ogata, H. (2013). *Exploring nucleo-cytoplasmic large DNA viruses in Tara Oceans microbial metagenomes*. 7(9). <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.59>
- Hofer, U. (2018). The majority is uncultured. *Nature Reviews Microbiology*, 16(12), 716-717. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0097-x>
- Hou, L., Zhao, Z., Steger-Mähnert, B., Jiao, N., Herndl, G. J., & Zhang, Y. (2025). Microbial metabolism in laboratory reared marine snow as revealed by a multi-omics approach. *Microbiome*, 13(1), 114. <https://doi.org/10.1186/s40168-025-02097-8>
- Inagaki, F., Nunoura, T., Nakagawa, S., Teske, A., Lever, M., Lauer, A., Suzuki, M., Takai, K., Delwiche, M., Colwell, F. S., Nealson, K. H., Horikoshi, K., & Jørgensen, B. B. (2006). *Biogeographical distribution and diversity of microbes in methane hydrate-bearing deep marine sediments on the Pacific Ocean Margin*. <https://www.pnas.org>
- Ivars-Martinez, E., Martin-Cuadrado, A.-B., D'auria, G., Mira, A., Ferrera, S., Johnson, J., Friedman, R., Rodriguez-Valera, F., Hernandez, M., & Alicante, S. J. D. (2008). Comparative genomics of two ecotypes of the marine planktonic copiotroph *Alteromonas macleodii* suggests alternative lifestyles associated with different kinds of particulate organic matter. *The ISME Journal*, 2, 1194-1212. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.74>

- Jeong, H. I., Jin, H. M., & Jeon, C. O. (2016). Complete genome sequence of *Sphingorhabdus* sp. M41, a versatile hydrocarbon degrader, isolated from crude oil-contaminated coastal sediment. *Journal of Biotechnology*, 227, 41-42. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.04.016>
- Jiao, J.-Y., Liu, L., Hua, Z.-S., Fang, B.-Z., Zhou, E.-M., Salam, N., Hedlund, B. P., & Li, W.-J. (2021). Microbial dark matter coming to light: Challenges and opportunities. *National Science Review*, 8(3), nwaa280. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa280>
- Jing, H., Xia, X., Suzuki, K., & Liu, H. (2013). Vertical Profiles of Bacteria in the Tropical and Subarctic Oceans Revealed by Pyrosequencing. *PLoS ONE*, 8(11), e79423. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079423>
- Joye, S. B., MacDonald, I. R., Leifer, I., & Asper, V. (2011). Magnitude and oxidation potential of hydrocarbon gases released from the BP oil well blowout. *Nature Geoscience*, 4(3), 160-164. <https://doi.org/10.1038/ngeo1067>
- Joye, S. B., Teske, A. P., & Kostka, J. E. (2014a). Microbial dynamics following the macondo oil well blowout across gulf of Mexico environments. *BioScience*, 64(9), 766-777. <https://doi.org/10.1093/biosci/biu121>
- Joye, S. B., Teske, A. P., & Kostka, J. E. (2014b). Microbial dynamics following the macondo oil well blowout across gulf of Mexico environments. *BioScience*, 64(9), 766-777. <https://doi.org/10.1093/biosci/biu121>
- Jungbluth, S. P., Amend, J. P., & Rappé, M. S. (2017). Metagenome sequencing and 98 microbial genomes from Juan de Fuca Ridge flank subsurface fluids. *Scientific Data*, 4. <https://doi.org/10.1038/sdata.2017.37>
- Kang, D. D., Froula, J., Egan, R., & Wang, Z. (2015). MetaBAT, an efficient tool for accurately reconstructing single genomes from complex microbial communities. *PeerJ*, 3, e1165. <https://doi.org/10.7717/peerj.1165>
- Karner, M. B., Delong, E. F., & Karl, D. M. (2001). Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature*, 409(6819), 507-510. <https://doi.org/10.1038/35054051>
- Kelley, D., Richards, C., & SCOR/IAPSO, W. (2024). *gsw: Gibbs Sea Water Functions*. <http://teos-10.github.io/GSW-R/>

- Kerou, M., Ponce-Toledo, R. I., Zhao, R., Abby, S. S., Hirai, M., Nomaki, H., Takaki, Y., Nunoura, T., Jørgensen, S. L., & Schleper, C. (2021). Genomes of Thaumarchaeota from deep sea sediments reveal specific adaptations of three independently evolved lineages. *The ISME Journal*, 15(9), 2792-2808. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00962-6>
- Kertesz, M. A. (2000). Riding the sulfur cycle – metabolism of sulfonates and sulfate esters in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(2), 135-175. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(99\)00033-9](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(99)00033-9)
- Kertesz*, M. A., & Kawasaki, A. (2010). Hydrocarbon-Degrading Sphingomonads: Sphingomonas, Sphingobium, Novosphingobium, and Sphingopyxis. En K. N. Timmis (Ed.), *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology* (pp. 1693-1705). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-77587-4_119
- Kietäväinen, R., & Purkamo, L. (2015). The origin, source, and cycling of methane in deep crystalline rock biosphere. *Frontiers in microbiology*, 6, 725. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00725>
- King, G. M., Smith, C. B., Tolar, B., & Hollibaugh, J. T. (2013). Analysis of composition and structure of coastal to mesopelagic bacterioplankton communities in the northern Gulf of Mexico. *Frontiers in microbiology*, 3(January), 1-14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00438>
- Kitzinger, K., Padilla, C. C., Marchant, H. K., Hach, P. F., Herbold, C. W., Kidane, A. T., Könneke, M., Littmann, S., Mooshammer, M., Niggemann, J., Petrov, S., Richter, A., Stewart, F. J., Wagner, M., Kuypers, M. M. M., & Bristow, L. A. (2019). Cyanate and urea are substrates for nitrification by Thaumarchaeota in the marine environment. *Nature Microbiology*, 4(2), 234-243. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0316-2>
- Kleindienst, S., Grim, S., Sogin, M., Bracco, A., Crespo-Medina, M., & Joye, S. B. (2016). Diverse, rare microbial taxa responded to the Deepwater Horizon deep-sea hydrocarbon plume. *The ISME Journal*, 10(2), 400-415. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.121>
- Könneke, M., Bernhard, A. E., De La Torre, J. R., Walker, C. B., Waterbury, J. B., & Stahl, D. A. (2005). Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature*, 437(7058), 543-546. <https://doi.org/10.1038/nature03911>
- Kostka, J. E., Prakash, O., Overholt, W. A., Green, S. J., Freyer, G., Canion, A., Delgardio, J., Norton, N., Hazen, T. C., & Huettel, M. (2011). Hydrocarbon-Degrading Bacteria and the Bacterial Community Response in Gulf of Mexico Beach Sands Impacted by the Deepwater Horizon Oil Spill † ‡. *Applied and environmental microbiology*, 77(22), 7962-7974. <https://doi.org/10.1128/AEM.05402-11>

- Kozich, J. J., Westcott, S. L., Baxter, N. T., Highlander, S. K., & Schloss, P. D. (2013). Development of a Dual-Index Sequencing Strategy and Curation Pipeline for Analyzing Amplicon Sequence Data on the MiSeq Illumina Sequencing Platform. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(17), 5112-5120. <https://doi.org/10.1128/aem.01043-13>
- Kurtz, Z. D., Lorenz, C., Helmholtz, M., Munich, Z., & Bonneau, R. (2015). Sparse and Compositionally Robust Inference of Microbial Ecological Networks PSOC Cell Line Exercise View project A single early-in-life macrolide course has lasting effects on murine microbial network topology and immunity View project. *Article in PLoS Computational Biology*. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004226>
- Lahti, L., & Shetty, S. (2017). *Microbiome R package*. Bioconductor. <https://doi.org/10.18129/B9.bioc.microbiome>
- Lai, D., Hedlund, B. P., Xie, W., Liu, J., Phelps, T. J., Zhang, C., & Wang, P. (2020). Impact of Terrestrial Input on Deep-Sea Benthic Archaeal Community Structure in South China Sea Sediments. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.572017>
- Landa, M., Burns, A. S., Durham, B. P., Esson, K., Nowinski, B., Sharma, S., Vorobev, A., Nielsen, T., Kiene, R. P., & Moran, M. A. (2019). Sulfur metabolites that facilitate oceanic phytoplankton–bacteria carbon flux. *The ISME Journal*, 13(10), 2536-2550. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0455-3>
- Langmead, B., & Salzberg, S. L. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*, 9(4), 357-359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
- Le Moine Bauer, S., Lu, G. S., Goulaouic, S., Puzenat, V., Schouw, A., Barreyre, T., Pawlowsky-Glahn, V., Egozcue, J. J., Martelat, J. E., Escartin, J., Amend, J. P., Nomikou, P., Vlasopoulos, O., Polymenakou, P., & Jørgensen, S. L. (2023). Structure and metabolic potential of the prokaryotic communities from the hydrothermal system of Paleochori Bay, Milos, Greece. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1060168>
- Lecoeuvre, A., Ménez, B., Cannat, M., Chavagnac, V., & Gérard, E. (2021). Microbial ecology of the newly discovered serpentinite-hosted Old City hydrothermal field (southwest Indian ridge). *ISME Journal*, 15(3), 818-832. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00816-7>
- Legendre, P., & Legendre, L. (2012). *Numerical Ecology*. Elsevier Science. <https://books.google.com.mx/books?id=DKIUIQcHhOsC>

- Lex, A., Gehlenborg, N., Strobel, H., Vuillemot, R., & Pfister, H. (2014). UpSet: Visualization of intersecting sets. *IEEE Transactions on Visualization and Computer Graphics*, 20(12), 1983-1992. <https://doi.org/10.1109/TVCG.2014.2346248>
- Li, D., Liu, C.-M., Luo, R., Sadakane, K., & Lam, T.-W. (2015). MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics*, 31(10), 1674-1676. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv033>
- Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., Marth, G., Abecasis, G., Durbin, R., & 1000 Genome Project Data Processing Subgroup. (2009). The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25(16), 2078-2079. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp352>
- Li, J., Cheng, H., Yin, F., Liu, J., Zhang, X.-H., & Yu, M. (2024). Deciphering Microbial Communities and Distinct Metabolic Pathways in the Tangyin Hydrothermal Fields of Okinawa Trough through Metagenomic and Genomic Analyses. *Microorganisms*, 12(3), 517. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12030517>
- Li, J., Gu, L., Bai, S., Wang, J., Su, L., Wei, B., Zhang, L., & Fang, J. (2021). Characterization of particle-Associated and free-living bacterial and archaeal communities along the water columns of the South China Sea. *Biogeosciences*, 18(1), 113-133. <https://doi.org/10.5194/bg-18-113-2021>
- Li, Y., Liu, Y., Guo, D., & Dong, H. (2024). Differential degradation of petroleum hydrocarbons by *Shewanella putrefaciens* under aerobic and anaerobic conditions. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1389954. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1389954>
- Linacre, L., Durazo, R., Camacho-Ibar, V. F., Selph, K. E., Lara-Lara, J. R., Mirabal-Gómez, U., Bazán-Guzmán, C., Lago-Lestón, A., Fernández-Martín, E. M., & Sidón-Ceseña, K. (2019). Picoplankton Carbon Biomass Assessments and Distribution of Prochlorococcus Ecotypes Linked to Loop Current Eddies During Summer in the Southern Gulf of Mexico. En *Journal of Geophysical Research: Oceans* (Vol. 124, Número 11). <https://doi.org/10.1029/2019JC015103>
- Liu, C., & Shao, Z. (2005). *Alcanivorax dieselolei* sp. Nov., a novel alkane-degrading bacterium isolated from sea water and deep-sea sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(3), 1181-1186. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63443-0>
- Liu, J., Bacosa, H. P., & Liu, Z. (2017). Potential Environmental Factors Affecting Oil-Degrading Bacterial Populations in Deep and Surface Waters of the Northern Gulf of Mexico. *Frontiers in Microbiology*, 7, 2131. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02131>

- Liu, J., Zheng, Y., Lin, H., Wang, X., Li, M., Liu, Y., Yu, M., Zhao, M., Pedentchouk, N., Lea-Smith, D. J., Todd, J. D., Magill, C. R., Zhang, W.-J., Zhou, S., Song, D., Zhong, H., Xin, Y., Yu, M., Tian, J., & Zhang, X.-H. (2019). Proliferation of hydrocarbon-degrading microbes at the bottom of the Mariana Trench. *Microbiome*, 7(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0652-3>
- Liu, R., Lai, Q., Gu, L., Yan, P., & Shao, Z. (2021). *Croceimicrobium hydrocarbonivorans* gen. Nov., sp. Nov., a novel marine bacterium isolated from a bacterial consortium that degrades polyethylene terephthalate. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(4). <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004770>
- Logares, R., Sunagawa, S., Salazar, G., Cornejo-Castillo, F. M., Ferrera, I., Sarmiento, H., Hingamp, P., Ogata, H., de Vargas, C., Lima-Mendez, G., Raes, J., Poulain, J., Jaillon, O., Wincker, P., Kandels-Lewis, S., Karsenti, E., Bork, P., & Acinas, S. G. (2014). Metagenomic 16S rDNA Illumina tags are a powerful alternative to amplicon sequencing to explore diversity and structure of microbial communities. *Environmental Microbiology*, 16(9), 2659-2671. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12250>
- Louca, S., Polz, M. F., Mazel, F., Albright, M. B. N., Huber, J. A., O'Connor, M. I., Ackermann, M., Hahn, A. S., Srivastava, D. S., Crowe, S. A., Doebeli, M., & Parfrey, L. W. (2018). Function and functional redundancy in microbial systems. *Nature Ecology & Evolution*, 2(6), 936-943. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0519-1>
- Love, Matthew. Baldera, Alexis. Yeung, Carmen. Robbins, C. (2013). The Gulf of Mexico Ecosystem: A Coastal and Marine Atlas. *Ocean Conservancy*.
- 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>
- Lu, J., Breitwieser, F. P., Thielen, P., & Salzberg, S. L. (2017). Bracken: Estimating species abundance in metagenomics data. *PeerJ Computer Science*, 3, e104. <https://doi.org/10.7717/peerj-cs.104>
- Lv, S., Wang, Q., Li, Y., Gu, L., Hu, R., Chen, Z., & Shao, Z. (2024). Biodegradation of polystyrene (PS) and polypropylene (PP) by deep-sea psychrophilic bacteria of *Pseudoalteromonas* in accompany with simultaneous release of microplastics and nanoplastics. *Science of The Total Environment*, 948, 174857. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174857>
- Lyu, L., Li, J., Chen, Y., Mai, Z., Wang, L., Li, Q., & Zhang, S. (2022). Degradation potential of alkanes by diverse oil-degrading bacteria from deep-sea sediments of Haima cold seep areas, South China Sea. *Frontiers in Microbiology*, 13, 920067. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.920067>

- MacDonald, I. R., Garcia-Pineda, O., Beet, A., Daneshgar Asl, S., Feng, L., Graettinger, G., French-McCay, D., Holmes, J., Hu, C., Huffer, F., Leifer, I., Muller-Karger, F., Solow, A., Silva, M., & Swayze, G. (2015). Natural and unnatural oil slicks in the Gulf of Mexico. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 120(12), 8364-8380. <https://doi.org/10.1002/2015JC011062>
- MacDonald, I. R., Guinasso, N. L., Reilly, J. F., Brooks, J. M., Callender, W. R., & Gabrielle, S. G. (1990). Gulf of Mexico hydrocarbon seep communities: VI. Patterns in community structure and habitat. *Geo-Marine Letters*, 10(4), 244-252. <https://doi.org/10.1007/BF02431071>
- Mangiafico, S. (2016). *rcompanion: Functions to Support Extension Education Program Evaluation* (p. 2.4.36) [Dataset]. <https://doi.org/10.32614/CRAN.package.rcompanion>
- Marietou, A., Schmidt, J. S., Rasmussen, M. R., Scoma, A., Rysgaard, S., & Vergeynst, L. (2023). The effect of hydrostatic pressure on the activity and community composition of hydrocarbon-degrading bacteria in Arctic seawater. *Applied and Environmental Microbiology*, 89(11), e00987-23. <https://doi.org/10.1128/aem.00987-23>
- Martin-Cuadrado, A.-B., Rodriguez-Valera, F., Moreira, D., Alba, J. C., Ivars-Martínez, E., Henn, M. R., Talla, E., & Pez-García, P. N. L. (2008). Hindsight in the relative abundance, metabolic potential and genome dynamics of uncultivated marine archaea from comparative metagenomic analyses of bathypelagic plankton of different oceanic regions Subject Category: Integrated genomics and post-genomic approaches in microbial ecology. *The ISME Journal*, 2, 865-886. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.40>
- Mason, O. U., Han, J., Woyke, T., & Jansson, J. K. (2014). Single-cell genomics reveals features of a *Colwellia* species that was dominant during the Deepwater Horizon oil spill. *Frontiers in Microbiology*, 5(JULY). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00332>
- McDougall, T., & Barker, P. M. (2011). Getting started with TEOS-10 and the Gibbs Seawater (GSW) Oceanographic Toolbox. *SCOR/IAPSO WG*, 127, 1-28.
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE*, 8(4), e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Medina-Gómez, I., Aguilar Trujillo, A., Marino-Tapia, I., Cruz, G., Herrera-Silveira, J., & Enriquez, C. (2019). Phytoplankton responses under a joint upwelling event and an algal bloom scenario in the southeast Gulf of Mexico. *Continental Shelf Research*, 184, 30-43. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2019.07.006>

- Mena, C., Balbín, R., Reglero, P., Martín, M., Santiago, R., & Sintés, E. (2021). Dynamic prokaryotic communities in the dark western Mediterranean Sea. *Scientific Reports*, *11*(1), 17859. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96992-3>
- Mena, C., Reglero, P., Balbín, R., Martín, M., Santiago, R., & Sintés, E. (2022). Dynamics of actively dividing prokaryotes in the western Mediterranean Sea. *Scientific Reports*, *12*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06120-y>
- Mikheenko, A., Saveliev, V., & Gurevich, A. (2016). MetaQUAST: Evaluation of metagenome assemblies. *Bioinformatics*, *32*(7), 1088-1090. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv697>
- Mikryukov, V. (2018). *vmikk/metagMisc: V.0.0.4* (Versión v.0.0.4) [Software]. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1172500>
- Minoche, A. E., Dohm, J. C., & Himmelbauer, H. (2011). Evaluation of genomic high-throughput sequencing data generated on Illumina HiSeq and Genome Analyzer systems. *Genome Biology*, *12*(11), R112. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-11-r112>
- Mirete, S., Sánchez-Costa, M., Díaz-Rullo, J., González de Figueras, C., Martínez-Rodríguez, P., & González-Pastor, J. E. (2025). Metagenome-Assembled Genomes (MAGs): Advances, Challenges, and Ecological Insights. *Microorganisms*, *13*(5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms13050985>
- Morris, R. M., & Mino, S. (2024). The complete genome sequences of *Thioglobus autotrophicus* strains EF2 and EF3, isolated from an oxycline in Effingham Inlet, British Columbia. *Microbiology Resource Announcements*, *13*(3), e01118-23. <https://doi.org/10.1128/mra.01118-23>
- Mullane, K. K., Nishiyama, M., Kurihara, T., & Bartlett, D. H. (2023). Compounding deep sea physical impacts on marine microbial motility. *Frontiers in Marine Science*, *10*, 1181062. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1181062>
- Muller-Karger, F. E., Smith, J. P., Werner, S., Chen, R., Roffer, M., Liu, Y., Muhling, B., Lindo-Atichati, D., Lamkin, J., Cerdeira-Estrada, S., & Enfield, D. B. (2015). Natural variability of surface oceanographic conditions in the offshore Gulf of Mexico. *Progress in Oceanography*, *134*, 54-76. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2014.12.007>
- Nam, N., Do, H., Loan Trinh, K., & Lee, N. (2023). Metagenomics: An Effective Approach for Exploring Microbial Diversity and Functions. *Foods*, *12*(11), 2140. <https://doi.org/10.3390/foods12112140>

- Nurk, S., Meleshko, D., Korobeynikov, A., & Pevzner, P. A. (2017). metaSPAdes: A new versatile metagenomic assembler. *Genome Research*, 27(5), 824-834. <https://doi.org/10.1101/gr.213959.116>
- Nzila, A., Jung, B. K., Kim, M. C., Ibal, J. C., Budiyanto, F., Musa, M. M., Thukair, A., Kim, S. J., & Shin, J. H. (2018). Complete genome sequence of the polycyclic aromatic hydrocarbons biodegrading bacterium *Idiomarina piscisalsi* strain 10PY1A isolated from oil-contaminated soil. *Korean Journal of Microbiology*, 54(3), 289-292. <https://doi.org/10.7845/kjm.2018.8034>
- Oger, P. M., Nunoura, T., Tamburini, C., Bartlett, D. H., Tarn, J., Peoples, L. M., Hardy, K., & Cameron, J. (2016). Identification of Free-Living and Particle-Associated Microbial Communities Present in Hadal Regions of the Mariana Trench. *Frontiers in Microbiology* | www.frontiersin.org, 1, 665. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00665>
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., Mcglinn, D., Minchin, P. R., O'hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Henry, M., Stevens, H., Szoecs, E., & Maintainer, H. W. (2019). *Package «vegan» Title Community Ecology Package.* <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/vegan.pdf>
- Ondov, B. D., Treangen, T. J., Melsted, P., Mallonee, A. B., Bergman, N. H., Koren, S., & Phillippy, A. M. (2016). Mash: Fast genome and metagenome distance estimation using MinHash. *Genome Biology*, 17(1), 132. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0997-x>
- Pajares, S., & Del Carmen Pelayo, M. (2025). Phylogenetic diversity and distribution patterns of ammonia-oxidizing microorganisms in marine environments. *Hydrobiologia*. <https://doi.org/10.1007/s10750-025-05878-2>
- Pajares, S., & Ramos, R. (2019). Processes and Microorganisms Involved in the Marine Nitrogen Cycle: Knowledge and Gaps. *Frontiers in Marine Science*, 6, 739. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00739>
- Pandey, C. B., Kumar, U., Kaviraj, M., Minick, K. J., Mishra, A. K., & Singh, J. S. (2020). DNRA: A short-circuit in biological N-cycling to conserve nitrogen in terrestrial ecosystems. *Science of The Total Environment*, 738, 139710. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139710>
- Parada, A. E., Needham, D. M., & Fuhrman, J. A. (2016). Every base matters: Assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. *Environmental Microbiology*, 18(5), 1403-1414. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13023>

- Paradis, E., & Schliep, K. (2019). *Ape 5. 0: An environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R*. 35(July 2018), 526-528. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty633>
- Parthasarathy, H., Hill, E., & MacCallum, C. (2007). Global ocean sampling collection. *PLoS Biology*, 5(3), 0369-0370. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050083>
- Paulmier, A., & Ruiz-Pino, D. (2009). Oxygen minimum zones (OMZs) in the modern ocean. *Progress in Oceanography*, 80(3-4), 113-128. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2008.08.001>
- Peeb, A., Dang, N. P., Truu, M., Nõlvak, H., Petrich, C., & Truu, J. (2022). Assessment of Hydrocarbon Degradation Potential in Microbial Communities in Arctic Sea Ice. *Microorganisms*, 10(2), 328. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020328>
- Peng, R.-H., Xiong, A.-S., Xue, Y., Fu, X.-Y., Gao, F., Zhao, W., Tian, Y.-S., & Yao, Q.-H. (2008). Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(6), 927-955. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00127.x>
- Perez Calderon, L. J., Gontikaki, E., Potts, L. D., Shaw, S., Gallego, A., Anderson, J. A., & Witte, U. (2019). Pressure and temperature effects on deep-sea hydrocarbon-degrading microbial communities in subarctic sediments. *MicrobiologyOpen*, 8(6), e00768. <https://doi.org/10.1002/mbo3.768>
- Pérez-Brunius, P., García-Carrillo, P., Dubranna, J., Sheinbaum, J., & Candela, J. (2013). Direct observations of the upper layer circulation in the southern Gulf of Mexico. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 85, 182-194. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2012.07.020>
- Pinto, M., Polania Zenner, P., Langer, T. M., Harrison, J., Simon, M., Varela, M. M., & Herndl, G. J. (2020). Putative degraders of low-density polyethylene-derived compounds are ubiquitous members of plastic-associated bacterial communities in the marine environment. *Environmental Microbiology*, 22(11), 4779-4793. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15232>
- Ploug, H. (2001). Small-scale oxygen fluxes and remineralization in sinking aggregates. *Limnology and Oceanography*, 46(7), 1624-1631. <https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.7.1624>
- Portela, E., Tenreiro, M., Pallàs-Sanz, E., Meunier, T., Ruiz-Angulo, A., Sosa-Gutiérrez, R., & Cusí, S. (2018). Hydrography of the Central and Western Gulf of Mexico. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 123(8), 5134-5149. <https://doi.org/10.1029/2018JC013813>

- Qu, T., Gao, S., & Fukumori, I. (2013). Formation of salinity maximum water and its contribution to the overturning circulation in the North Atlantic as revealed by a global general circulation model. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 118(4), 1982-1994. <https://doi.org/10.1002/jgrc.20152>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), 590-596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Quintanilla, J. G., Herguera, J. C., & Sheinbaum, J. (2024). Oxygenation of the Gulf of Mexico thermocline linked to the detachment of Loop Current eddies. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1479837. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1479837>
- R Core Team. (2023). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Raggi, L., García-Guevara, F., Godoy-Lozano, E. E., Martínez-Santana, A., Escobar-Zepeda, A., Gutierrez-Rios, R. M., Loza, A., Merino, E., Sanchez-Flores, A., Licea-Navarro, A., Pardo-Lopez, L., Segovia, L., & Juarez, K. (2020). Metagenomic Profiling and Microbial Metabolic Potential of Perdido Fold Belt (NW) and Campeche Knolls (SE) in the Gulf of Mexico. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01825>
- Redmond, M. C., & Valentine, D. L. (2012). Natural gas and temperature structured a microbial community response to the Deepwater Horizon oil spill. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(50), 20292-20297. <https://doi.org/10.1073/pnas.1108756108>
- Rivers, A. R., Sharma, S., Tringe, S. G., Martin, J., Joye, S. B., & Moran, M. A. (2013). Transcriptional response of bathypelagic marine bacterioplankton to the Deepwater Horizon oil spill. *ISME Journal*, 7(12), 2315-2329. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.129>
- Robinson, C., Steinberg, D. K., Anderson, T. R., Arístegui, J., Carlson, C. A., Frost, J. R., Ghiglione, J.-F., Hernández-León, S., Jackson, G. A., Koppelman, R., Quéguiner, B., Ragueneau, O., Rassoulzadegan, F., Robison, B. H., Tamburini, C., Tanaka, T., Wishner, K. F., & Zhang, J. (2010). Mesopelagic zone ecology and biogeochemistry – a synthesis. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 57(16), 1504-1518. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2010.02.018>
- Rocha, U., Kasmanas, J. C., Toscan, R., Sanches, D. S., Magnusdottir, S., & Saraiva, J. P. (2024). Simulation of 69 microbial communities indicates sequencing depth and false positives are major drivers of bias in prokaryotic metagenome-assembled genome recovery. *PLoS Computational Biology*, 20(10), e1012530. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1012530>

- Rochman, F. F., Sheremet, A., Tamas, I., Saidi-Mehrabad, A., Kim, J.-J., Dong, X., Sensen, C. W., Gieg, L. M., & Dunfield, P. F. (2017). Benzene and Naphthalene Degrading Bacterial Communities in an Oil Sands Tailings Pond. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1845. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01845>
- Rodrigues, C. J. C., & De Carvalho, C. C. C. R. (2022). Cultivating marine bacteria under laboratory conditions: Overcoming the “unculturable” dogma. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 964589. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.964589>
- Rosenberg, E. (2013). Hydrocarbon-Oxidizing Bacteria. E. Rosenberg, E. F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, & F. Thompson (Eds.), *The Prokaryotes: Prokaryotic Physiology and Biochemistry* (pp. 201-214). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30141-4_66
- Ruff, S. E., Felden, J., Gruber-Vodicka, H. R., Marcon, Y., Knittel, K., Ramette, A., & Boetius, A. (2018). In situ development of a methanotrophic microbiome in deep-sea sediments. *The ISME Journal*, 13(1), 197-213. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0263-1>
- Ruiz-González, C., Mestre, M., Estrada, M., Sebastián, M., Salazar, G., Agustí, S., Moreno-Ostos, E., Reche, I., Álvarez-Salgado, X. A., Morán, X. A. G., Duarte, C. M., Sala, M. M., & Gasol, J. M. (2020). Major imprint of surface plankton on deep ocean prokaryotic structure and activity. *Molecular Ecology*, 29(10), 1820-1838. <https://doi.org/10.1111/mec.15454>
- Salazar, G., Cornejo-Castillo, F. M., Benítez-Barrios, V., Fraile-Nuez, E., Álvarez-Salgado, X. A., Duarte, C. M., Gasol, J. M., & Acinas, S. G. (2016). Global diversity and biogeography of deep-sea pelagic prokaryotes. *ISME Journal*, 10(3), 596-608. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.137>
- Salazar, G., Cornejo-Castillo, F. M., Borrull, E., Díez-Vives, C., Lara, E., Vaqué, D., Arrieta, J. M., Duarte, C. M., Gasol, J. M., & Acinas, S. G. (2015). Particle-association lifestyle is a phylogenetically conserved trait in bathypelagic prokaryotes. *Molecular Ecology*, 24(22), 5692-5706. <https://doi.org/10.1111/mec.13419>
- Sanchez-Garcia, L., Fernandez-Martinez, M. A., García-Villadangos, M., Blanco, Y., Cady, S. L., Hinman, N., Bowden, M. E., Pointing, S. B., Lee, K. C., Warren-Rhodes, K., Lacap-Bugler, D., Cabrol, N. A., Parro, V., & Carrizo, D. (2019). Microbial Biomarker Transition in High-Altitude Sinter Mounds From El Tatio (Chile) Through Different Stages of Hydrothermal Activity. *Frontiers in Microbiology*, 9, 3350. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03350>
- Schliep, K. P. (2011). phangorn: Phylogenetic analysis in R. *Bioinformatics applications note*, 27(4), 592-593. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq706>

- Schomburg, D., & Stephan, D. (1994). Catechol 1,2-dioxygenase. D. Schomburg & D. Stephan (Eds.), *Enzyme Handbook: Class 1.13–1.97: Oxidoreductases* (pp. 1-7). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-57942-4_1
- Sebastián, M., Giner, C. R., Balagué, V., Gómez-Letona, M., Massana, R., Logares, R., Duarte, C. M., & Gasol, J. M. (2024). The active free-living bathypelagic microbiome is largely dominated by rare surface taxa. *ISME Communications*, 4(1), ycae015. <https://doi.org/10.1093/ismeco/ycae015>
- Seemann, T. (2014). Prokka: Rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, 30(14), 2068-2069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>
- Segerman, B., Ástvaldsson, Á., Mustafa, L., Skarin, J., & Skarin, H. (2022). The efficiency of Nextera XT tagmentation depends on G and C bases in the binding motif leading to uneven coverage in bacterial species with low and neutral GC-content. *Frontiers in Microbiology*, 13, 944770. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.944770>
- Semedo, M., Lopes, E., Baptista, M. S., Oller-Ruiz, A., Gilabert, J., Tomasino, M. P., & Magalhães, C. (2021). Depth Profile of Nitrifying Archaeal and Bacterial Communities in the Remote Oligotrophic Waters of the North Pacific. *Frontiers in Microbiology*, 12(3), 1-18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.624071>
- Semenova, E. M., Tourova, T. P., Babich, T. L., Logvinova, E. Y., Sokolova, D. S., Loiko, N. G., Myazin, V. A., Korneykova, M. V., Mardanov, A. V., & Nazina, T. N. (2023). Crude Oil Degradation in Temperatures Below the Freezing Point by Bacteria from Hydrocarbon-Contaminated Arctic Soils and the Genome Analysis of *Sphingomonas* sp. AR_OL41. *Microorganisms*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010079>
- Shao, Q., Sun, D., Fang, C., Feng, Y., & Wang, C. (2022). Biodiversity and Biogeography of Abundant and Rare Microbial Assemblages in the Western Subtropical Pacific Ocean. *Frontiers in Microbiology*, 13(March), 1-14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.839562>
- Shen, Y., Benner, R., Broek, T. A. B., Walker, B. D., & McCarthy, M. D. (2025). Special delivery of proteinaceous matter to deep-sea microbes. *Science Advances*, 11(12), eadr0736. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adr0736>
- Sieber, C. M. K., Probst, A. J., Sharrar, A., Thomas, B. C., Hess, M., Tringe, S. G., & Banfield, J. F. (2018). Recovery of genomes from metagenomes via a dereplication, aggregation and scoring strategy. *Nature Microbiology*, 3(7), 836-843. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0171-1>
- Singh, N. K., Wood, J. M., Patane, J., Moura, L. M. S., Lombardino, J., Setubal, J. C., & Venkateswaran, K.

- (2023). Characterization of metagenome-assembled genomes from the International Space Station. *Microbiome*, 11(1), 125. <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01545-7>
- Sohn, J. H., Kwon, K. K., Kang, J.-H., Jung, H.-B., & Kim, S.-J. (2004). *Novosphingobium pentaromativorans* sp. Nov., a high-molecular-mass polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from estuarine sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(Pt 5), 1483-1487. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02945-0>
- Sohrin, R., Isaji, M., Obara, Y., Agostini, S., Suzuki, Y., Hiroe, Y., Ichikawa, T., & Hidaka, K. (2011). Distribution of *Synechococcus* in the dark ocean. *Aquatic Microbial Ecology*, 64(1), 1-14. <https://doi.org/10.3354/ame01508>
- Steen, A. D., Crits-Christoph, A., Carini, P., DeAngelis, K. M., Fierer, N., Lloyd, K. G., & Cameron Thrash, J. (2019). High proportions of bacteria and archaea across most biomes remain uncultured. *The ISME Journal*, 13(12), 3126-3130. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0484-y>
- Stramma, L., & England, M. (1999). On the water masses and mean circulation of the South Atlantic Ocean. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 104(C9), 20863-20883. <https://doi.org/10.1029/1999jc900139>
- Stukel, M. R., Kelly, T. B., Landry, M. R., Selph, K. E., & Swalethorp, R. (2021). Sinking carbon, nitrogen, and pigment flux within and beneath the euphotic zone in the oligotrophic, open-ocean Gulf of Mexico. *Journal of Plankton Research*, 1-17. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbab001>
- Sun, K., Yu, M., Zhu, X.-Y., Xue, C.-X., Zhang, Y., Chen, X., Yao, P., Chen, L., Fu, L., Yang, Z., & Zhang, X.-H. (2023). Microbial communities related to the sulfur cycle in the Sansha Yongle Blue Hole. *Microbiology Spectrum*, 11(5), e01149-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01149-23>
- Sunagawa, S., Coelho, L. P., Chaffron, S., Kultima, J. R., Labadie, K., Salazar, G., Djahanschiri, B., Zeller, G., Mende, D. R., Alberti, A., Cornejo-Castillo, F. M., Costea, P. I., Cruaud, C., d'Ovidio, F., Engelen, S., Ferrera, I., Gasol, J. M., Guidi, L., Hildebrand, F., ... Velayoudon, D. (2015). Structure and function of the global ocean microbiome. *Science*, 348(6237), 1261359-1261359. <https://doi.org/10.1126/science.1261359>
- Teramoto, M., Ohuchi, M., Hatmanti, A., Darmayati, Y., Widyastuti, Y., Harayama, S., & Fukunaga, Y. (2011). *Oleibacter marinus* gen. Nov., sp. Nov., a bacterium that degrades petroleum aliphatic hydrocarbons in a tropical marine environment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(2), 375-380. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.018671-0>

- Thanbichler, M., Wang, S. C., & Shapiro, L. (2005). The bacterial nucleoid: A highly organized and dynamic structure. *Journal of Cellular Biochemistry*, 96(3), 506-521. <https://doi.org/10.1002/jcb.20519>
- Thompson, A. W., & Kouba, K. (2019). Differential Activity of Coexisting Prochlorococcus Ecotypes. *Frontiers in Marine Science*, 6, 701. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00701>
- Thrash, J. C., Seitz, K. W., Baker, B. J., Temperton, B., Gillies, L. E., Rabalais, N. N., Henrissat, B., & Mason, O. U. (2017). *Metabolic Roles of Uncultivated Bacterioplankton Lineages in the Northern Gulf of Mexico «Dead Zone»*. <https://doi.org/10.1128/mBio>
- Tocchini-Valentini, G. P. G. D., Fruscoloni, P., & Tocchini-Valentini, G. P. G. D. (2011). Evolution of introns in the archaeal world. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(12), 4782-4787. <https://doi.org/10.1073/pnas.1100862108>
- Tolar, B. B., King, G. M., & Hollibaugh, J. T. (2013). An analysis of thaumarchaeota populations from the northern gulf of Mexico. *Frontiers in microbiology*, 4, 72. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00072>
- Torres-Beltrán, M., Vargas-Gastélum, L., Magdaleno-Moncayo, D., Riquelme, M., Herguera-García, J. C., Prieto-Davó, A., & Lago-Lestón, A. (2021). The metabolic core of the prokaryotic community from deep-sea sediments of the southern Gulf of Mexico shows different functional signatures between the continental slope and abyssal plain. *PeerJ*, 9, e12474. <https://doi.org/10.7717/peerj.12474>
- Tully, B. J. (2019). Metabolic diversity within the globally abundant Marine Group II Euryarchaea offers insight into ecological patterns. *Nature Communications*, 10(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07840-4>
- Tyson, G. W., Chapman, J., Hugenholtz, P., Allen, E. E., Ram, R. J., Richardson, P. M., Solovyev, V. V., Rubin, E. M., Rokhsar, D. S., & Banfield, J. F. (2004). Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment. *Nature*, 428(6978), 37-43. <https://doi.org/10.1038/nature02340>
- Ullrich, S., Kube, M., Schübbe, S., Reinhardt, R., & Schüler, D. (2005). A Hypervariable 130-Kilobase Genomic Region of *Magnetospirillum gryphiswaldense* Comprises a Magnetosome Island Which Undergoes Frequent Rearrangements during Stationary Growth. *Journal of Bacteriology*, 187(21), 7176-7184. <https://doi.org/10.1128/JB.187.21.7176-7184.2005>
- Uritskiy, G. V., DiRuggiero, J., & Taylor, J. (2018). MetaWRAP—a flexible pipeline for genome-resolved metagenomic data analysis. *Microbiome*, 6(1), 158. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0541-1>

- Valencia-Agami, S. S., Cerqueda-García, D., Abril, |, Gamboa-Muñoz, M., Aguirre-Macedo, | M. Leopoldina, García-Maldonado, J. Q., Aguirre-Macedo, M. L., & De, C. (2024). *Structure and composition of microbial communities in the water column from Southern Gulf of Mexico and detection of putative hydrocarbon-degrading microorganisms*. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13264>
- Valencia-Agami, S. S., Cerqueda-García, D., Putzeys, S., Uribe-Flores, M., García-Cruz, N. U., Pech, D., Herrera-Silveira, J., Aguirre-Macedo, M. L., & García-Maldonado, J. Q. (2019). *Microorganisms Changes in the Bacterioplankton Community Structure from Southern Gulf of Mexico During a Simulated Crude Oil Spill at Mesocosm Scale*. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7100441>
- Valencia-Gasti, J. A., Camacho-Ibar, V. F., & Herguera, J. C. (2022). Water Mass Structure and Mixing Fractions in the Deepwater Region of the Gulf of Mexico. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 127(5). <https://doi.org/10.1029/2021jc017705>
- Valentine, D. L. (2011). Emerging Topics in Marine Methane Biogeochemistry. En *Annual Review of Marine Science* (Vol. 3, Número Volume 3, 2011, pp. 147-171). Annual Reviews. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120709-142734>
- Valentine, D. L., Kessler, J. D., Redmond, M. C., Mendes, S. D., Heintz, M. B., Farwell, C., Hu, L., Kinnaman, F. S., Yvon-Lewis, S., Du, M., Chan, E. W., Tigreros, F. G., & Villanueva, C. J. (2010). Propane Respiration Jump-Starts Microbial Response to a Deep Oil Spill. *Science*, 330(6001), 208-211. <https://doi.org/10.1126/science.1196830>
- Varasteh, T., Ahmadi, R. A., Mendonça, B., Santos, E. de O., Shokri, M. R., Tschoeke, D., Thompson, C., & Thompson, F. (2025). Genome diversity of *Alteromonas macleodii* isolated from the Persian Gulf and the Atlantic Ocean. *Regional Studies in Marine Science*, 85, 104140. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2025.104140>
- Ventosa, A., Joaquín, J., Nieto, J. J., & Oren, A. (1998). Biology of Moderately Halophilic Aerobic Bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews* (Vol. 62, Número 2, pp. 504-544).
- Villegas-Mendoza, J., Gómez-Ocampo, E., Velásquez-Aristizábal, J., & Rodríguez-Escobar, D. (2022). Microbial metabolic activity in two basins of the Gulf of Mexico influenced by mesoscale structures. *Journal of Marine Systems*, 234, 103781. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2022.103781>
- Wang, W., Li, Z., Zeng, L., Dong, C., & Shao, Z. (2020). The oxidation of hydrocarbons by diverse heterotrophic and mixotrophic bacteria that inhabit deep-sea hydrothermal ecosystems. *ISME Journal*, 14(8), 1994-2006. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0662-y>

- Wang, Z., Huang, P., You, R., Sun, F., & Zhu, S. (2023). MetaBinner: A high-performance and stand-alone ensemble binning method to recover individual genomes from complex microbial communities. *Genome Biology*, 24(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s13059-022-02832-6>
- White, D., Drummond, J. T., & Fuqua, C. (2007). *The physiology and biochemistry of prokaryotes*. <http://libfubooke.com/the-physiology-and-biochemistry-of-prokaryotes-library-to-the-world.pdf>
- Woese, C. R., & Fox, G. E. (1977). Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(11), 5088-5090. <https://doi.org/10.1073/PNAS.74.11.5088>
- Wood, D. E., Lu, J., & Langmead, B. (2019). Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biology*, 20(1), 257. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1891-0>
- Wright, J. J., Lee, S., Zaikova, E., Walsh, D. A., & Hallam, S. J. (2009). DNA Extraction from 0.22 μ m Sterivex Filters and Cesium Chloride Density Gradient Centrifugation. *Journal of Visualized Experiments*, 31, 3-6. <https://doi.org/10.3791/1352>
- Wu, Y.-W., Simmons, B. A., & Singer, S. W. (2016). MaxBin 2.0: An automated binning algorithm to recover genomes from multiple metagenomic datasets. *Bioinformatics*, 32(4), 605-607. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv638>
- Yakimov, M. M., Denaro, R., Genovese, M., Cappello, S., Auria, G. D. ', Chernikova, T. N., Timmis, K. N., Golyshin, P. N., & Giluliano, L. (2005). Natural microbial diversity in superficial sediments of Milazzo Harbor (Sicily) and community successions during microcosm enrichment with various hydrocarbons. *Environmental Microbiology*, 7(9), 1426-1441. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00829.x>
- Yakimov, M. M., Timmis, K. N., & Golyshin, P. N. (2007). Obligate oil-degrading marine bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(3), 257-266. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.04.006>
- Yang, C., Chowdhury, D., Zhang, Z., Cheung, W. K., Lu, A., Bian, Z., & Zhang, L. (2021). A review of computational tools for generating metagenome-assembled genomes from metagenomic sequencing data. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 6301-6314. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.11.028>
- Zhang, C. L., Xie, W., Martin-Cuadrado, A.-B., & Rodriguez-Valera, F. (2015). Marine Group II Archaea, potentially important players in the global ocean carbon cycle. *Frontiers in microbiology*, 6, 1108. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01108>

- Zhang, D., McPhaden, M. J., & Johns, W. E. (2003). Observational Evidence for Flow between the Subtropical and Tropical Atlantic: The Atlantic Subtropical Cells*. *Journal of Physical Oceanography*, 33(8), 1783-1797. <https://doi.org/10.1175/2408.1>
- Zhang, J., Li, F., Long, L., & Huang, S. (2022). Quantification of Marine Picocyanobacteria on Water Column Particles and in Sediments Using Real-Time PCR Reveals Their Role in Carbon Export. *mSphere*, 7(6). <https://doi.org/10.1128/msphere.00499-22>
- Zhao, R., Summers, Z. M., Christman, G. D., Yoshimura, K. M., & Biddle, J. F. (2020). Metagenomic views of microbial dynamics influenced by hydrocarbon seepage in sediments of the Gulf of Mexico. *Scientific Reports*, 10(1), 5772. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62840-z>
- Zheng, Y., Wang, B., Gao, P., Yang, Y., Xu, B., Su, X., Ning, D., Tao, Q., Li, Q., Zhao, F., Wang, D., Zhang, Y., Li, M., Winkler, M.-K. H., Ingalls, A. E., Zhou, J., Zhang, C., Stahl, D. A., Jiang, J., ... Qin, W. (2024). Novel order-level lineage of ammonia-oxidizing archaea widespread in marine and terrestrial environments. *The ISME Journal*, 18(1), wrad002. <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrad002>
- Zhou, Z., Tran, P. Q., Breister, A. M., Liu, Y., Kieft, K., Cowley, E. S., Karaoz, U., & Anantharaman, K. (2022). METABOLIC: High-throughput profiling of microbial genomes for functional traits, metabolism, biogeochemistry, and community-scale functional networks. *Microbiome*, 10(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01213-8>

H45	Sur
H46	Sur
H47	Sur
P01	CL ¹
TS1	Norte
Y3	CL
Y6	CL
Y7	CL
Y9	CL

x		x	x
x	x	x	
x		x	x
x	x	x	

x	x	x	
x			
x		x	x

x		x	x
x		x	
		x	

Tabla 9. Datos ambientales de las muestras de agua de mar.

Estación	Profundidad	Campaña oceanográfica	Profundidad del fondo marino (m)	Densidad (kg m ⁻³)	Profundidad de colecta (m)
A10	ZMOR ¹	XI ² -05	3362	27.09	510.40
A4	ZMOR	XI-05	3629	27.11	453.50
A7	ZMOR	XI-05	3525	27.09	452.70
B12	ZMOR	XI-05	3564	27.07	449.70
B17	ZMOR	XI-05	3088	27.19	500.10
B18	ZMOR	XI-05	1275	27.17	414.60
C22	ZMOR	XI-05	3728	27.11	474.40
G44	ZMOR	XI-05	2387	27.10	421.70
H46	ZMOR	XI-05	2751	27.14	358.30
H47	ZMOR	XI-05	1489	27.07	415.10
PO1	ZMOR	XI-05	3287	27.01	633.30
TS1	ZMOR	XI-05	1860	27.10	383.70
B12	800 m	XI-05	3564	27.39	800.50
B17	800 m	XI-05	3088	27.47	799.60
B18	800 m	XI-05	1261	27.57	799.40
G44	800 m	XI-05	2387	27.46	802.50
H47	800 m	XI-05	1489	27.48	799.70
TS1	800 m	XI-05	1860	27.52	798.80
A10	1000 m	XI-05	3362	27.61	999.40
A4	1000 m	XI-05	3629	27.61	1000.60
A7	1000 m	XI-05	3525	27.60	1000.60
B12	1000 m	XI-05	3564	27.56	1002.70
B17	1000 m	XI-05	3088	27.60	1004.60
B18	1000 m	XI-05	1275	27.68	1002.60
C22	1000 m	XI-05	3728	27.58	999.60
G44	1000 m	XI-05	2387	27.60	999.60
H46	1000 m	XI-05	2751	27.63	998.10
H47	1000 m	XI-05	1489	27.61	1000.00
PO1	1000 m	XI-05	3287	27.47	1000.40

TS1	1000 m	XI-05	1860	27.63	1002.90
A10	FONDO	XI-05	3362	27.72	3340.40
A4	FONDO	XI-05	3629	27.72	3602.10
A7	FONDO	XI-05	3525	27.72	3513.60
C22	FONDO	XI-05	3728	27.72	3663.80
H46	FONDO	XI-05	2751	27.73	2721.30
PO1	FONDO	XI-05	3287	27.73	3276.20
B17	ZMOR	XI-06	2964	27.09	389.50
C21	ZMOR	XI-06	3201	27.09	420.80
C25	ZMOR	XI-06	3721	27.14	430.80
D27	ZMOR	XI-06	2710	27.14	414.70
D30	ZMOR	XI-06	3316	27.12	419.00
E33	ZMOR	XI-06	3435	27.13	427.40
F37	ZMOR	XI-06	3186	27.10	399.30
G40	ZMOR	XI-06	1928	27.10	449.80
G44	ZMOR	XI-06	2408	27.12	414.50
H45	ZMOR	XI-06	2187	27.12	409.40
Y3	ZMOR	XI-06	1114	27.16	513.30
Y7	ZMOR	XI-06	1914	27.14	600.40
B17	800 m	XI-06	2964	27.48	799.30
C25	800 m	XI-06	3721	27.49	800.50
E33	800 m	XI-06	3435	27.49	799.20
G40	800 m	XI-06	1928	27.41	802.20
G44	800 m	XI-06	2408	27.46	800.10
H45	800 m	XI-06	2187	27.51	800.20
A10	1000 m	XI-06	3348	27.41	954.70
C25	1000 m	XI-06	3721	27.61	1000.50
D27	1000 m	XI-06	2710	27.65	999.20
D30	1000 m	XI-06	3316	27.60	1000.10
E33	1000 m	XI-06	3435	27.63	1000.70
F37	1000 m	XI-06	3186	27.62	1000.10

G40	1000 m	XI-06	1928	27.59	993.70
G44	1000 m	XI-06	2408	27.59	1001.10
H45	1000 m	XI-06	2187	27.63	999.50
Y7	1000 m	XI-06	1914	27.61	1000.90
A10	FONDO	XI-06	3348	27.73	3342.30
C21	FONDO	XI-06	3201	27.73	3185.50
D27	FONDO	XI-06	2710	27.73	2701.00
D30	FONDO	XI-06	3316	27.73	3316.40
F37	FONDO	XI-06	3186	27.73	3164.80
Y7	FONDO	XI-06	1914	27.74	1892.70
A2	ZMOR	XI-07	3616	27.07	437.80
A6	ZMOR	XI-07	3528	27.08	398.20
A7	ZMOR	XI-07	3527	27.04	347.90
B12	ZMOR	XI-07	3539	26.99	423.10
C23	ZMOR	XI-07	3739	27.05	417.80
C24	ZMOR	XI-07	3736	27.06	402.20
Y6	ZMOR	XI-07	1800	27.14	526.10
Y7	ZMOR	XI-07	1916	27.17	587.90
A10	800 m	XI-07	3342	27.30	797.10
B12	800 m	XI-07	3539	27.42	794.20
C24	800 m	XI-07	3736	27.48	798.40
A10	1000 m	XI-07	3341	27.51	996.70
A2	1000 m	XI-07	3616	27.67	1196.70
A6	1000 m	XI-07	3528	27.62	996.20
A7	1000 m	XI-07	3527	27.65	995.70
B12	1000 m	XI-07	3539	27.56	964.50
C23	1000 m	XI-07	3739	27.59	995.60
C24	1000 m	XI-07	3736	27.60	994.90
Y6	1000 m	XI-07	1800	27.70	1194.90
Y7	1000 m	XI-07	1916	27.60	996.10
Y9	1000 m	XI-07	4481	27.46	995.40

A6	FONDO	XI-07	3528	27.73	3478.70
A7	FONDO	XI-07	3527	27.73	3485.70
C23	FONDO	XI-07	3739	27.72	3683.90
Y6	FONDO	XI-07	1800	27.74	1786.90

¹ZMOR, Zona Mínima de Oxígeno Relativo; ²XI, XIXIMI.

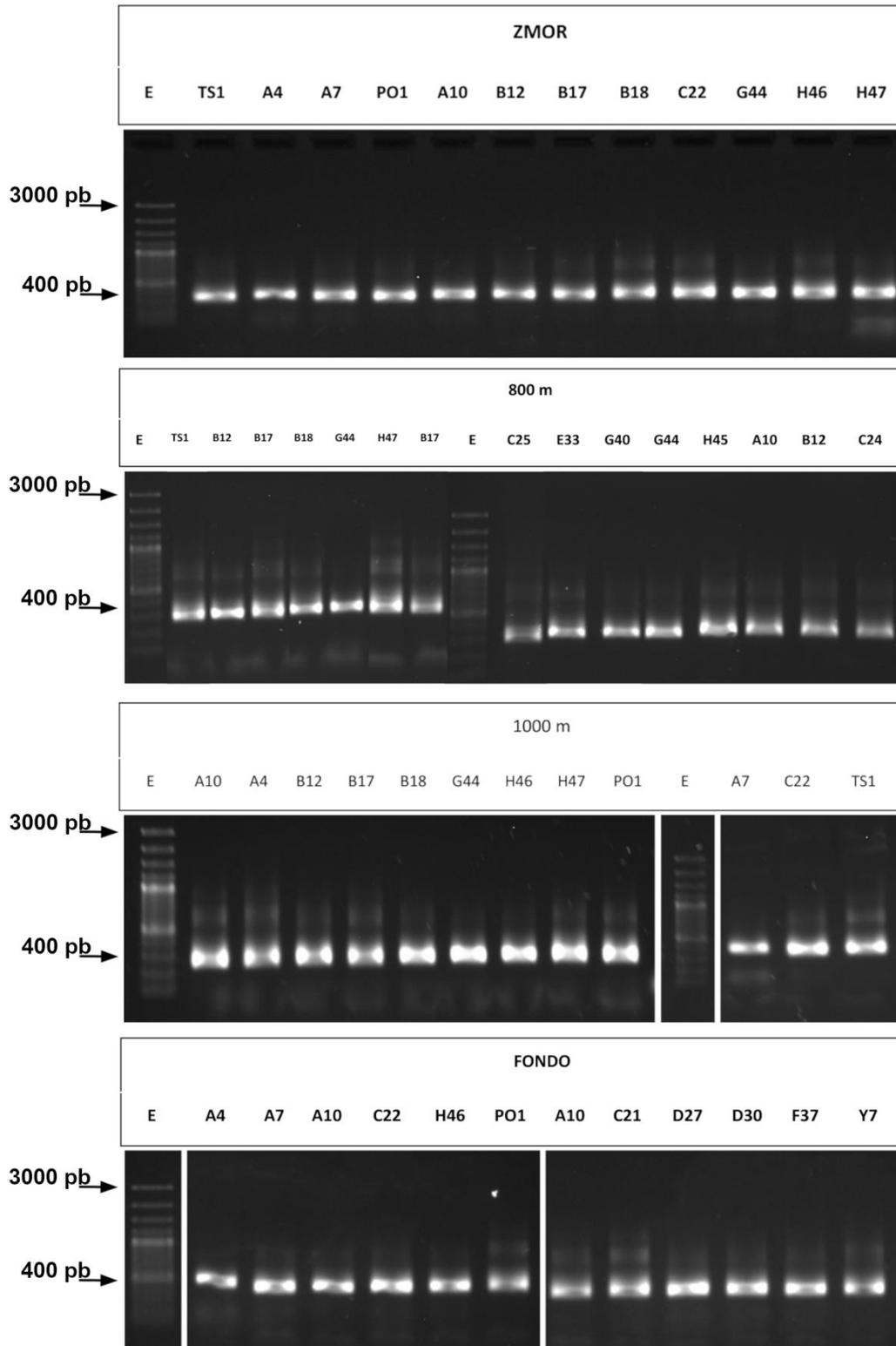


Figura 29. Electroforesis del producto de PCR de la región V4 del gen 16 ARNr de algunas de las muestras estudiadas por profundidad. Se utilizó 3 μ l de producto de PCR por pozo. La corrida se realizó en geles de agarosa al 1% con un voltaje de 50 V por 37 min. El tamaño del fragmento esperado es de aproximadamente 390 pb. E= escalera.

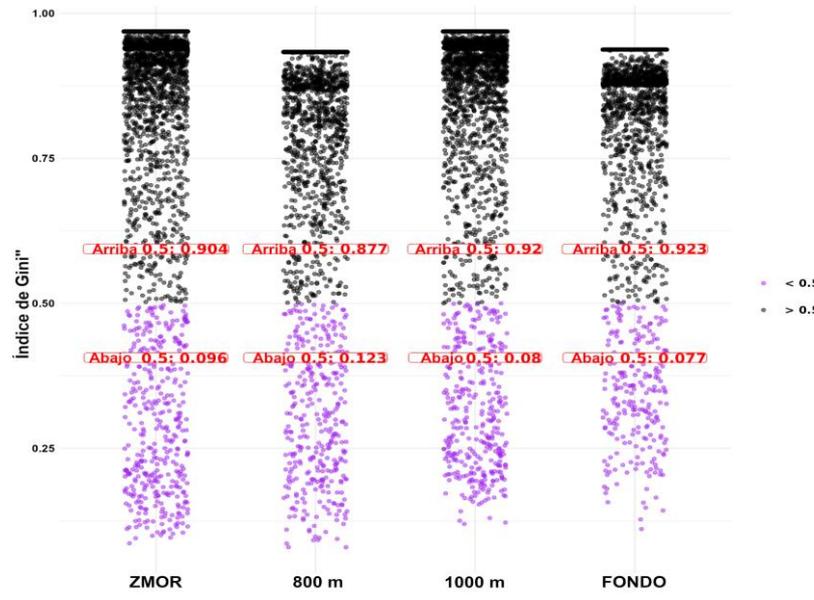


Figura 30. Gráfico de dispersión de los coeficientes de Gini por ASV y profundidad; la anotación muestra la proporción de puntos por encima y por debajo de 0.5.

Tabla 10. Resultados de los PERMANOVAS y comparación *pairwise* sobre el efecto de la profundidad, campaña oceanográfica y la región de muestreo en la composición de la estructura de la comunidad de bacterias y arqueas.

	Capa de profundidad					
	UniFrac ponderado			UniFrac no ponderado		
	PERMANOVA		Betadisper	PERMANOVA		Betadisper
	R ²	<i>p</i>	<i>p</i>	R ²	<i>p</i>	<i>p</i>
Toda la comunidad	0.135	< 0.001	0.057	0.179	< 0.001	0.052
ZMOR - FONDO	0.180	0.006		0.090	< 0.001	
ZMOR - 1000 m	0.091	0.018		0.101	0.006	
800 m - FONDO	0.137	0.042		0.134	0.006	
1000 m - FONDO	0.059	0.234		0.143	0.006	
ZMOR - 800 m	0.046	0.474		0.205	0.006	
1000 m - 800 m	0.042	0.678		0.045	0.024	

	Campaña oceanográfica					
	UniFrac ponderado			UniFrac no ponderado		
	PERMANOVA		Betadisper	PERMANOVA		Betadisper
	R ²	<i>p</i>	<i>p</i>	R ²	<i>p</i>	<i>p</i>
Toda la comunidad	0.127	< 0.001	0.041	0.092	< 0.001	0.012
Por profundidad						
ZMOR	0.224	0.003	0.230	0.092	< 0.001	0.023
XI-06 - XI-07	0.311	0.003				
XI-05 - XI-07	0.231	0.009				
XI-05 - XI-06	0.043	1.000				
800 m	0.147	0.099	0.228	0.173	0.099	0.103
1000 m	0.146	0.036	0.115	0.176	< 0.001	0.014
XI-06 - XI-07	0.175	0.027				
XI-05 - XI-07	0.142	0.138				

XI-05 - XI-06	0.045	1.000				
FONDO	0.372	0.011	0.084	0.247	< 0.001	0.002
XI-06 - XI-07	0.326	0.042				
XI-05 - XI-07	0.448	0.060				
XI-05 - XI-06	0.159	0.363				

	Región					
	UniFrac ponderado			UniFrac no ponderado		
	PERMANOVA		Betadisper	PERMANOVA		Betadisper
	R ²	<i>p</i>	<i>p</i>	R ²	<i>p</i>	<i>p</i>
Toda la comunidad	0.096	0.003	0.063	0.055	0.001	0.112
CL - sur	0.143	0.001		0.061	0.001	
centro - sur	0.118	0.002		0.053	0.002	
CL - norte	0.054	0.050		0.036	0.012	
norte - sur	0.046	0.082		0.032	0.054	
CL - centro	0.033	0.174		0.028	0.091	
norte - centro	0.028	0.184		0.023	0.314	
Por profundidad						
ZMOR	0.179	0.049	0.094	0.129	0.009	0.135
CL - sur	0.145	0.005		0.138	0.002	
centro - sur	0.121	0.034		0.094	0.024	
CL - norte	0.053	0.050		0.101	0.035	
norte - sur	0.047	0.088		0.087	0.080	
CL - centro	0.033	0.212		0.071	0.210	
norte - centro	0.027	0.240		0.064	0.236	
800 m	0.245	0.308	0.306	0.213	0.467	0.666
1000 m	0.216	0.016	0.322	0.213	0.467	0.666
CL - sur	0.285	0.006		0.106	0.021	

centro - sur	0.385	0.003		0.110	0.064	
CL - norte	0.037	0.588		0.083	0.088	
norte - sur	0.158	0.063		0.063	0.455	
CL - centro	0.070	0.351		0.081	0.137	
norte - centro	0.073	0.290		0.095	0.093	
FONDO	0.225	0.323	0.058	0.232	0.126	0.995

El valor R^2 de PERMANOVA indica la varianza explicada y una $p < 0.05$ que hay significancia estadística. PERMANOVA se realizó solo en aquellas comparaciones donde el valor p del análisis *Betadisper* fue > 0.05 para garantizar la homogeneidad en la dispersión y obtener comparaciones grupales más precisas. ZMOR, zona mínima de oxígeno relativo y XI, XIXIMI.

Tabla 11. Análisis de abundancia diferencial de ASVs de arqueas entre profundidades. Los valores de *effect size* fueron calculados mediante ALDEx2, comparando pares de profundidades adyacentes. Todas las comparaciones mostraron diferencias significativas (prueba de Kruskal-Wallis; p-valores ajustados por corrección de Benjamini-Hochberg, FDR < 0.05). Para focalizar el análisis en las variantes más relevantes, solo se incluyen los ASVs con *effect size* > 1, indicando cambios sustanciales en su abundancia relativa entre estratos.

ZMOR - 800 m		800 m - 1000 m		1000 m-FONDO	
ASVs	Effect size	ASVs	Effect size	ASVs	Effect size
ASV_553:o_Marine Group III	-3.63	ASV_399:f_Nitrosopumilaceae	-2.18	ASV_424:f_Nitrosopumilaceae	-1.45
ASV_588:o_Marine Group III	-3.61	ASV_347:f_Nitrosopumilaceae	-1.46	ASV_318:f_Nitrosopumilaceae	-1.35
ASV_651:o_Marine Group II	-3.45	ASV_341:f_Nitrosopumilaceae	-1.42	ASV_565:o_Marine Group III	-1.34
ASV_511:f_Nitrosopumilaceae	-3.37	ASV_554:o_Marine Group III	-1.39	ASV_588:o_Marine Group III	-1.24
ASV_670:o_Marine Group II	-2.68	ASV_290:f_Nitrosopumilaceae	-1.18	ASV_561:o_Marine Group III	-1.24
ASV_517:f_Nitrosopumilaceae	-2.64	ASV_542:f_Nitrosopumilaceae	-1.05	ASV_426:f_Nitrosopumilaceae	-1.23
ASV_729:o_Marine Group II	-2.64	ASV_591:o_Marine Group III	-1.04	ASV_363:f_Nitrosopumilaceae	-1.22
ASV_392:f_Nitrosopumilaceae	-2.63	ASV_619:o_Marine Group II	1.01	ASV_544:f_Nitrosopumilaceae	-1.18
ASV_343:f_Nitrosopumilaceae	-2.54	ASV_727:o_Marine Group II	1.05	ASV_364:f_Nitrosopumilaceae	-1.18
ASV_399:f_Nitrosopumilaceae	-2.52	ASV_656:o_Marine Group II	1.09	ASV_542:f_Nitrosopumilaceae	-1.17
ASV_601:o_Marine Group III	-2.50	ASV_357:f_Nitrosopumilaceae	1.13	ASV_292:f_Nitrosopumilaceae	-1.10
ASV_567:o_Marine Group III	-2.46	ASV_513:f_Nitrosopumilaceae	1.22	ASV_346:f_Nitrosopumilaceae	-1.08
ASV_381:f_Nitrosopumilaceae	-2.36	ASV_376:f_Nitrosopumilaceae	1.24	ASV_436:f_Nitrosopumilaceae	-1.08
ASV_976:o_Woearchaeales	-2.02	ASV_688:o_Marine Group II	1.33	ASV_529:f_Nitrosopumilaceae	-1.08
ASV_530:f_Nitrosopumilaceae	-2.01	ASV_520:f_Nitrosopumilaceae	1.55	ASV_714:o_Marine Group II	-1.07
ASV_505:f_Nitrosopumilaceae	-2.00	ASV_597:o_Marine Group III	1.79	ASV_555:o_Marine Group III	-1.07
ASV_382:f_Nitrosopumilaceae	-1.92	ASV_403:f_Nitrosopumilaceae	2.70	ASV_366:f_Nitrosopumilaceae	-1.06
ASV_492:f_Nitrosopumilaceae	-1.87			ASV_976:o_Woearchaeales	-1.05
ASV_363:f_Nitrosopumilaceae	-1.79			ASV_729:o_Marine Group II	-1.05
ASV_559:o_Marine Group III	-1.75			ASV_401:f_Nitrosopumilaceae	-1.04
ASV_412:f_Nitrosopumilaceae	-1.73			ASV_659:o_Marine Group II	-1.03
ASV_1045:f_SCGC AAA011-D5	-1.65			ASV_642:o_Marine Group II	-1.01
ASV_397:f_Nitrosopumilaceae	-1.64			ASV_340:f_Nitrosopumilaceae	-1.01
ASV_544:f_Nitrosopumilaceae	-1.63			ASV_351:f_Nitrosopumilaceae	-1.00
ASV_565:o_Marine Group III	-1.61			ASV_597:o_Marine Group III	1.03
ASV_605:o_Marine Group III	-1.58			ASV_476:f_Nitrosopumilaceae	1.04
ASV_1017:o_Woearchaeales	-1.57			ASV_800:o_Woearchaeales	1.07
ASV_289:f_Nitrosopumilaceae	-1.55			ASV_608:o_Marine Group III	1.08

ASV_292:f_Nitrosopumilaceae	-1.54
ASV_341:f_Nitrosopumilaceae	-1.53
ASV_594:o_Marine Group III	-1.53
ASV_372:f_Nitrosopumilaceae	-1.52
ASV_494:f_Nitrosopumilaceae	-1.51
ASV_475:f_Nitrosopumilaceae	-1.50
ASV_522:f_Nitrosopumilaceae	-1.48
ASV_420:f_Nitrosopumilaceae	-1.44
ASV_724:o_Marine Group II	-1.40
ASV_319:f_Nitrosopumilaceae	-1.33
ASV_529:f_Nitrosopumilaceae	-1.32
ASV_290:f_Nitrosopumilaceae	-1.31
ASV_418:f_Nitrosopumilaceae	-1.27
ASV_1033:k_Archaea	-1.26
ASV_295:f_Nitrosopumilaceae	-1.24
ASV_566:o_Marine Group III	-1.24
ASV_659:o_Marine Group II	-1.21
ASV_1075:o_Woearchaeales	-1.19
ASV_419:f_Nitrosopumilaceae	-1.19
ASV_279:f_Nitrosopumilaceae	-1.19
ASV_782:c_Nitrososphaeria	-1.12
ASV_523:f_Nitrosopumilaceae	-1.10
ASV_364:f_Nitrosopumilaceae	-1.10
ASV_380:f_Nitrosopumilaceae	-1.09
ASV_425:f_Nitrosopumilaceae	-1.06
ASV_714:o_Marine Group II	-1.06
ASV_342:f_Nitrosopumilaceae	-1.05
ASV_756:o_SCGC AB-179-E04	-1.05
ASV_353:f_Nitrosopumilaceae	-1.04
ASV_527:f_Nitrosopumilaceae	-1.03
ASV_585:o_Marine Group III	1.00
ASV_455:f_Nitrosopumilaceae	1.01
ASV_369:f_Nitrosopumilaceae	1.08
ASV_312:f_Nitrosopumilaceae	1.09

ASV_671:o_Marine Group II	1.10
ASV_477:f_Nitrosopumilaceae	1.11
ASV_713:o_Marine Group II	1.11
ASV_531:f_Nitrosopumilaceae	1.12
ASV_520:f_Nitrosopumilaceae	1.14
ASV_505:f_Nitrosopumilaceae	1.14
ASV_771:o_Marine Benthic A	1.15
ASV_530:f_Nitrosopumilaceae	1.18
ASV_700:o_Marine Group II	1.18
ASV_559:o_Marine Group III	1.20
ASV_721:o_Marine Group II	1.22
ASV_739:o_Methanofastidiosales	1.25
ASV_494:f_Nitrosopumilaceae	1.27
ASV_835:o_Woearchaeales	1.28
ASV_688:o_Marine Group II	1.28
ASV_651:o_Marine Group II	1.30
ASV_1036:o_Woearchaeales	1.32
ASV_492:f_Nitrosopumilaceae	1.33
ASV_834:o_Woearchaeales	1.33
ASV_569:o_Marine Group III	1.37
ASV_517:f_Nitrosopumilaceae	1.37
ASV_475:f_Nitrosopumilaceae	1.43
ASV_574:o_Marine Group III	1.47
ASV_716:o_Marine Group II	1.52
ASV_511:f_Nitrosopumilaceae	1.56

ASV_715:o_Marine Group II	1.12
ASV_422:f_Nitrosopumilaceae	1.16
ASV_450:f_Nitrosopumilaceae	1.17
ASV_465:f_Nitrosopumilaceae	1.19
ASV_572:o_Marine Group III	1.21
ASV_439:f_Nitrosopumilaceae	1.23
ASV_423:f_Nitrosopumilaceae	1.28
ASV_440:f_Nitrosopumilaceae	1.28
ASV_557:o_Marine Group III	1.33
ASV_647:o_Marine Group II	1.38
ASV_429:f_Nitrosopumilaceae	1.39
ASV_573:o_Marine Group III	1.41
ASV_720:o_Marine Group II	1.45
ASV_696:o_Marine Group II	1.58
ASV_361:f_Nitrosopumilaceae	1.63
ASV_457:f_Nitrosopumilaceae	1.63
ASV_454:f_Nitrosopumilaceae	1.63
ASV_695:o_Marine Group II	1.75
ASV_502:f_Nitrosopumilaceae	1.76
ASV_300:Candidatus Nitrosopumilus	1.77
ASV_294:f_Nitrosopumilaceae	1.79
ASV_578:o_Marine Group III	1.79
ASV_543:f_Nitrosopumilaceae	1.81
ASV_416:f_Nitrosopumilaceae	1.83
ASV_681:o_Marine Group II	1.88
ASV_673:o_Marine Group II	1.91
ASV_438:f_Nitrosopumilaceae	1.91
ASV_698:o_Marine Group II	1.94
ASV_275:f_Nitrosopumilaceae	1.98
ASV_339:f_Nitrosopumilaceae	2.01
ASV_501:f_Nitrosopumilaceae	2.03
ASV_697:o_Marine Group II	2.03
ASV_394:f_Nitrosopumilaceae	2.06

ASV_447:f_Nitrosopumilaceae	2.07
ASV_287:f_Nitrosopumilaceae	2.11
ASV_273:f_Nitrosopumilaceae	2.11
ASV_286:f_Nitrosopumilaceae	2.14
ASV_284:f_Nitrosopumilaceae	2.14
ASV_503:f_Nitrosopumilaceae	2.20
ASV_1060:o_Woearchaeales	2.30
ASV_728:o_Marine Group II	2.70
ASV_403:f_Nitrosopumilaceae	3.53
ASV_655:o_Marine Group II	3.70

Tabla 12. Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis con p-valores corregidos por Benjamini-Hochberg y *effect size*, determinados con Aldex2, a partir del análisis por pares de profundidades en rutas metabólicas predichas por PICRUST2 de las comunidades de bacterias y arqueas. Los análisis para las comparaciones ZMOR - 800 m y 800 - 1000 m no presentaron abundancias diferenciales de ninguna ruta metabólica.

ZMOR-1000 m		
Ruta metabólica	Valor de <i>p</i> (prueba Kruskal-Wallis)	Effect size
Ciclo de S-adenosil-L-metionina I	0.000058	1.003992
Degradación de betaina de glicina I	0.000006	1.291008

ZMOR-FONDO		
Ruta metabólica	Valor de <i>p</i> (prueba Kruskal-Wallis)	Effect size
Metanogénesis a partir de H2 y CO2	0.001212	-1.071179
Degradación de 2-nitrobenzoato I	0.000087	1.028745
Biosíntesis de ADP-L-glicero-beta-D-mano-heptosa	0.001108	1.033979
Transferencia de Kdo al lípido IVA III (Chlamydia)	0.000579	1.066097
Degradación de creatinina I	0.000075	1.072234
Degradación de L-triptófano IX	0.000035	1.114768
Degradación de catecol II (vía de meta-clivaje)	0.000326	1.132402
Degradación de 2-aminofenol	0.000052	1.150093
Degradación de L-triptófano XII (Geobacillus)	0.000036	1.168836
Degradación de catecol a 2-oxopent-4-enoato II	0.000237	1.169982
Reducción de nitrato VI (asimilatoria)	0.000419	1.194765
Biosíntesis de tiazol II (Bacillus)	0.000053	1.291032
Ruta de biosíntesis de difosfato de tiamina II	0.000046	1.300733
Degradación de L-valina I	0.000181	1.316657
Degradación de L-triptófano a 2-amino-3-carboximuconato semialdehído	0.000103	1.366002
Biosíntesis de NAD II (a partir de triptófanoojkd)	0.000100	1.376826
Ruta de biosíntesis de difosfato de tiamina I	0.000038	1.396204
Ciclo de S-adenosil-L-metionina I	0.000144	1.398841
Biosíntesis de tiazol I (E. coli)	0.000044	1.403302
Degradación de mio-inositol I	0.000010	1.539294

Biosíntesis de beta-alanina II	0.000074	1.550755
Degradación de mio-, quilo- y scilo-inositol	0.000010	1.647654
Degradación de betaína de glicina I	0.000005	1.940773
Supervía de degradación de sulfolactato	0.000005	2.310120

800 m-FONDO		
Ruta metabólica	Valor de <i>p</i> (prueba Kruskal-Wallis)	<i>Effect size</i>
Supervía de degradación de sulfolactato	0.008	-1.326
Degradación de mio-, quilo- y scilo-inositol	0.015	-1.209
Biosíntesis de beta-alanina II	0.019	-1.116
Degradación de mio-inositol I	0.018	-1.083
Degradación de L-valina I	0.024	-1.025
Degradación de betaina de glicina I	0.019	-1.004
Degradación de sacarosa II (sacarosa sintasa)	0.005	1.351

1000 m-FONDO		
Ruta metabólica	Valor de <i>p</i> (prueba Kruskal-Wallis)	<i>Effect size</i>
Biosíntesis de beta-alanina II	0.008	-1.062

Tabla 13. Número de lecturas por muestras generadas por secuenciación, previo al control de calidad

Muestra	Número de lecturas (<i>forward+reverse</i>)
A4-ZMOR	46 005 474
A4-1000 m	86 741 938
A4-FONDO	78 629 686
A6-ZMOR	61 373 600
A6-1000 m	15 460 488
A6-FONDO	88 617 012
C22-ZMOR	64 502 700
C22-1000 m	50 258 017
C22-FONDO	90 239 513
F37-ZMOR	129 248 614
F37-1000 m	97 909 736
F37-FONDO	83 881 245
PO1-ZMOR	73 828 220
PO1-1000 m	63 238 324
PO1-FONDO	78 304 702
Y6-ZMOR	97 005 557
Y6-1000 m	63 333 893
Y6-FONDO	40 878 766

Tabla 14. Géneros de bacterias relacionadas con la degradación de hidrocarburos descritos en la literatura.

Orden	Género	Referencia
Alteromonadales	<i>Alteromonas</i>	(Gutierrez, Berry, et al., 2013; Yakimov et al., 2007)
	<i>Aestuariibacter</i>	(Achberger et al., 2021)
	<i>Colwellia</i>	(Chakraborty et al., 2012; Mason et al., 2014)
	<i>Idiomarina</i>	(Fasca et al., 2018; Nzila et al., 2018)
	<i>Pseudoalteromonas</i>	(Cui et al., 2008; Gauthier et al., 1992)
	<i>Psychromonas</i>	(Brakstad y Bonaunet, 2006)
	<i>Marinobacter</i>	(Gutierrez, Berry, et al., 2013; Yakimov et al., 2005)
	<i>Shewanella</i>	(Li et al., 2024)
	<i>Rheinheimera</i>	(Cappello et al., 2016)
Bacillales	<i>Planomicrobium</i>	(Al-Dossary et al., 2021)
Caulobacterales	<i>Brevundimonas</i>	(Deng et al., 2014)
Flavobacteriales	<i>Muricauda</i>	(Cappello et al., 2016)
	<i>Tenacibaculum</i>	(Perez Calderon et al., 2019)
	<i>Crocinitomix</i>	(Liu et al., 2021)
	<i>Pseudofulvibacter</i>	(Marietou et al., 2023)
	<i>Winogradskyella</i>	(Bacosa et al., 2015; Liu et al., 2017)
	<i>Flavobacterium</i>	(Gontikaki et al., 2018; Lyu et al., 2022)
	<i>Olleya</i>	(Gutierrez et al., 2013)
Methylococcales	<i>Cycloclasticus</i>	(Dyksterhouse et al., 1995; Valentine et al., 2010)
Oceanospirillales	<i>Alcanivorax</i>	(Hazen et al., 2010; Yakimov et al., 2007)
	<i>Oleiphilus</i>	(Golyshin, 2002)
	<i>Oleibacter</i>	(Liu & Shao, 2005; Teramoto et al., 2011)
	<i>Neptunomonas</i>	(Gutierrez, Singleton, et al., 2013; tdlund et al., 1999)
	<i>Halomonas</i>	(Gutierrez, Singleton, et al., 2013; Hedlund et al., 1999)
	<i>Chromohalobacter</i>	(Gutierrez, Berry, et al., 2013; Ventosa et al., 1998)
Rhodobacterales	<i>Asciaceihabitans</i>	(Peeb et al., 2022)
	<i>Celeribacter</i>	(Cao et al., 2015)

	<i>Cognatishimia</i>	(Pinto et al., 2020)
	<i>Limimanicola</i>	(Lyu et al., 2022)
	<i>Nautella</i>	(Bacosa et al., 2015; Liu et al., 2017)
	<i>Oceanobacterium</i>	(Teramoto et al., 2011)
	<i>Paracoccus</i>	(Cerqueda-García et al., 2020)
	<i>Ruegeria</i>	(Peeb et al., 2022)
	<i>Sagittula</i>	(Abe et al., 2025)
	<i>Shimia</i>	(Fragoso et al., 2015)
	<i>Thalassobius</i>	(Bacosa et al., 2015; Liu et al., 2017)
	<i>Tropicibacter</i>	(Harwati et al., 2009)
Pseudomonadales	<i>Pseudomonas</i>	(Cerqueda-García et al., 2020; Kostka et al., 2011)
	<i>Acinetobacter</i>	(Valencia-Agami et al., 2024)
	<i>Psychrobacter</i>	(Aboud et al., 2021)
	<i>Enhydrobacter</i>	(Rochman et al., 2017)
Sphingomonadales	<i>Blastomonas</i>	(Semenova et al., 2023)
	<i>Erythrobacter</i>	(Cappello et al., 2016; Wang et al., 2020)
	<i>Novosphingobium</i>	(Sohn et al., 2004)
	<i>Sphingobium</i>	(Kertesz & Kawasaki, 2010)
	<i>Sphingomonas</i>	(Cerqueda-García et al., 2020)
	<i>Sphingopyxis</i>	(Kertesz & Kawasaki, 2010)
	<i>Sphingorhabdus</i>	(Jeong et al., 2016)

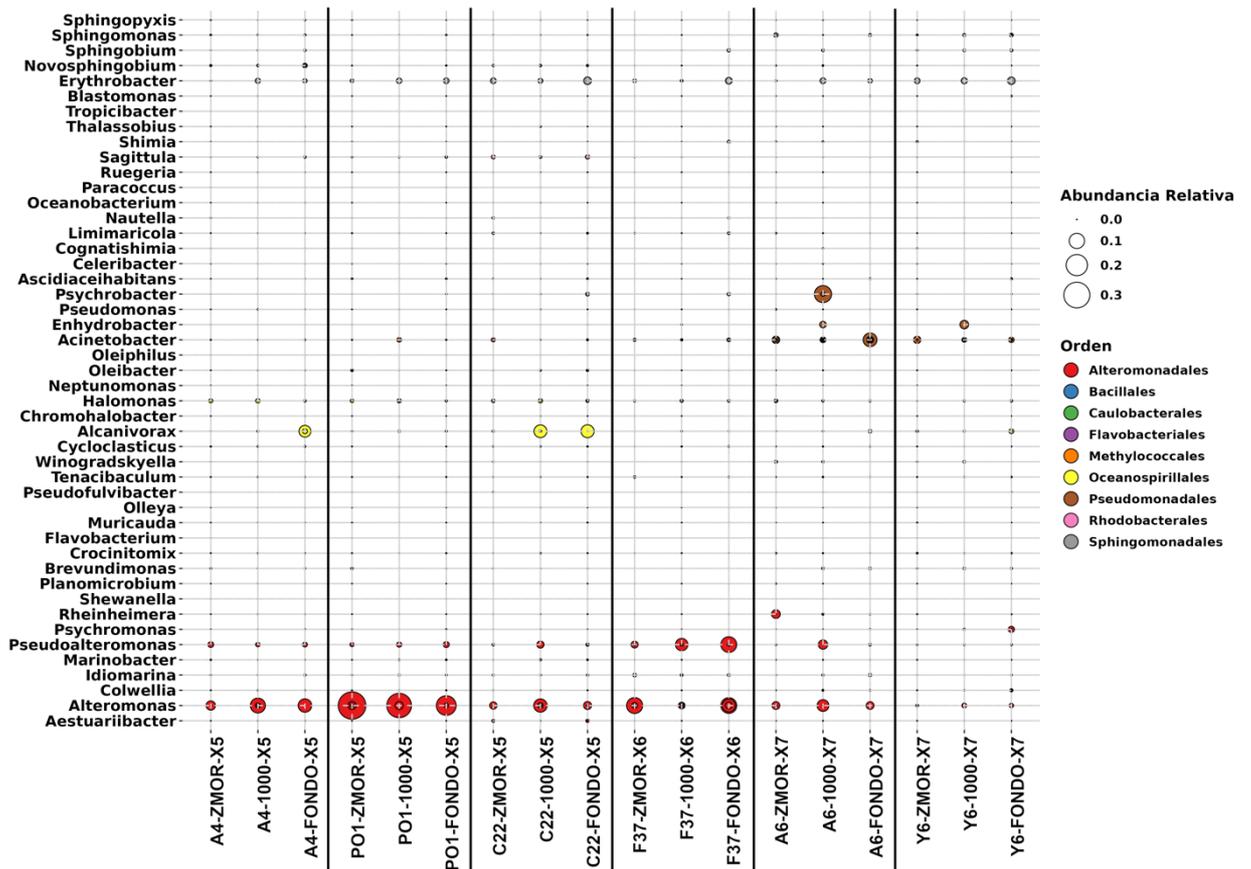


Figura 31. Diagrama de burbujas de las abundancias relativas de géneros de bacterias relacionadas con la degradación de hidrocarburos con base a los resultados de *metabarcoding*. Se muestran los perfiles de las seis estaciones seleccionadas. Los géneros se indican en el eje Y, y el color de las burbujas corresponde a los órdenes a los que pertenece cada género.

