



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD FÚNGICA EN SEDIMENTO DE UNA ZONA  
MÍNIMA DE OXÍGENO DEL OCEANO PACÍFICO, COSTA DE MAZATLÁN,  
ZONA ECONÓMICA EXCLUSIVA DE MÉXICO**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS  
CAMPO DE CONOCIMIENTO: BIOLOGÍA MARINA**

**PRESENTA:**

**BIÓL. JUDITH CARINA POSADAS HERNÁNDEZ**

**TUTORA PRINCIPAL**

**DRA. PATRICIA VÉLEZ AGUILAR  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA**

**COMITÉ TUTOR:**

**DRA. SILVIA PAJARES MORENO  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y  
LIMNOLOGÍA, UNAM**

**DRA. LAURA ESPINOSA ASUAR  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM**

**DRA. DENÍ CLAUDIA RODRÍGUEZ  
VARGAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM  
DRA. VIVIANNE SOLÍS WEISS  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y  
LIMNOLOGÍA, UNAM**

**ASESOR EXTERNO:**

**DR. JAIME GASCA PINEDA  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO, 2023**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD FÚNGICA EN SEDIMENTO DE UNA ZONA  
MÍNIMA DE OXÍGENO DEL OCÉANO PACÍFICO, COSTA DE MAZATLÁN,  
ZONA ECONÓMICA EXCLUSIVA DE MÉXICO**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRA EN CIENCIAS**  
CAMPO DE CONOCIMIENTO: BIOLOGÍA MARINA

PRESENTA:  
**BIÓL. JUDITH CARINA POSADAS HERNÁNDEZ**

**TUTORA PRINCIPAL**  
DRA. PATRICIA VÉLEZ AGUILAR  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA

**COMITÉ TUTOR:**

DRA. SILVIA PAJARES MORENO  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y  
LIMNOLOGÍA, UNAM

DRA. LAURA ESPINOSA ASUAR  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

DRA. DENÍ CLAUDIA RODRÍGUEZ  
VARGAS  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM  
DRA. VIVIANNE SOLÍS WEISS  
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y  
LIMNOLOGÍA, UNAM

**ASESOR EXTERNO:**  
DR. JAIME GASCA PINEDA  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO, 2023**

## **Agradecimientos académicos**

Al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por darme la oportunidad de continuar desarrollando mi formación académica y científica.

A los apoyos recibidos (beca no. 783293 y para cursar la “Capacitación para la escritura de manuscritos académicos en inglés” del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología; beca del Programa de Apoyos a los Estudios del Posgrado para participar virtualmente con una presentación oral en el *Asian Mycological Congress*, 2021; y beca de la *Deep-Sea Biology Society* para participar virtualmente con un cartel en el *16th Deep Sea Biology Symposium*.

Al proyecto IN200921 de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico y del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, UNAM por financiar esta investigación.

A la Dra. Patricia Vélez Aguilar por acogerme como estudiante y brindarme revisiones constantes en el desarrollo del proyecto, darme la oportunidad de explorar nuevos horizontes, así como por motivarme para ser cada vez mejor persona y profesionista.

A los miembros de mi Comité Tutor: Dra. Patricia Vélez Aguilar, Dra. Silvia Pajares Moreno, y Dra. Laura Espinosa Asuar por su inconmensurable retroalimentación y apoyo.

A los miembros del Jurado: Dra. Patricia Vélez Aguilar, Dra. Silvia Pajares Moreno, Dra. Laura Espinosa Asuar, Dra. Dení Claudia Rodríguez Vargas, Dra. Vivianne Solís Weiss, y Dr. Jaime Gasca Pineda por sus revisiones y aportaciones al presente escrito.

A la Dra. Silvia Pajares Moreno por proporcionar amablemente las muestras para realizar la presente investigación; a la Dra. Laura Espinosa Asuar por brindarme herramientas para mi formación académica y emocional; al Dr. Jaime Gasca Pineda por su supervisión y paciencia en el procesamiento bioinformático y estadístico de los datos; a la Dra. Dení Claudia Rodríguez Vargas por su valiosa perspectiva transdisciplinaria y a la Dra. Vivianne Solís Weiss por inspirarme a comprender más sobre el ambiente marino bentónico.

A la Dra. Lidia Irene Cabrera Martínez, encargada del Laboratorio de Sistemática Molecular del Departamento de Botánica, por su apoyo; a la Q.F.B. Susana Santiago Pérez y al Lic. José Antonio Hernández Hernández por la realización de los análisis químicos de sedimento y columna de agua en el Laboratorio de Ecología Microbiana Acuática del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología; al Instituto de Biología (UNAM) por facilitar su infraestructura para realizar el trabajo; así como al capitán y a la tripulación del buque oceanográfico de investigación científica “El Puma” de la UNAM, gracias al cual fue posible explorar la Zona Económica Exclusiva del Pacífico Mexicano.

A mis maestros del posgrado por brindarme una valiosa formación integral para desarrollar este proyecto de investigación.

A los integrantes del Laboratorio C-121 de Micromicetes del Instituto de Biología, por su afable convivencia, sus consejos y aportaciones para realizar este proyecto.

## **Dedicatoria**

A mis padres y hermanos por su amor y apoyo incondicional para educarme e impulsarme a encontrar mi propósito y lograr mis metas. Los amo hasta el infinito y más allá.

A mi mamá Ofelia Hernández por obsequiarme paz, su fortaleza, resiliencia, compañía, sus desvelos, y sobre todo su tiempo.

A mi padre Guillermo Posadas por darme la libertad para lograr mis metas, enseñarme a ser fuerte y a no darme por vencida.

A mi hermana Cinthya Posadas por enseñarme a tener esperanza, vivir diferente, desafiar mi personalidad, motivarme y muy especialmente por confiar en mí.

A mi hermano Julio Posadas por sus enseñanzas, por ser mi guía y por su inconmensurable protección.

A mis sobrinas Aquetzalli y Amairany Posadas por su incondicional amor e infinita alegría.

A mi abuelito Benjamín Hernández por su apoyo y resguardo, así como por compartir sus recuerdos y sus consejos vastos de sabiduría.

A la extraordinaria omnipresencia de mi abuelita Ambrosia Hernández y padrino Ignacio Posadas por obsequiarme grandes lecciones de vida.

A mis mascotas (Antuán, Jackie y Greta) por su obstinada lealtad y compañía.

Por último, quiero agradecer a los miembros del Laboratorio C-121, a mis amigos y a todas las personas especiales que me apoyaron en este proceso.

*“No te rindas, aún estás a tiempo  
de alcanzar y comenzar de nuevo,  
aceptar tus sombras, enterrar tus miedos,  
liberar el lastre, retomar el vuelo.*

*No te rindas que la vida es eso,  
continuar el viaje,  
perseguir tus sueños,  
destrabar el tiempo,  
correr los escombros y destapar el cielo.*

*No te rindas, por favor no cedas,  
aunque el frío queme,  
aunque el miedo muerda,  
aunque el sol se esconda y se calle el viento,  
aún hay fuego en tu alma,  
aún hay vida en tus sueños,  
porque la vida es tuya y tuyo también el deseo,  
porque lo has querido y porque te quiero.”*

*-Mario Benedetti*

## Índice

Portada	I
Portadilla	II
Agradecimientos académicos	III
Dedicatoria	IV
Reflexión	V
Índice	VI
Resumen	VII
Abstract	VIII
1. Introducción general	1
1.1. Diversidad fúngica en ambientes marinos	3
1.2. Diversidad fúngica en ZMO	4
2. Antecedentes	6
3. Justificación e importancia	8
4. Preguntas de investigación	9
5. Hipótesis	9
6. Objetivos	10
6.1. General	10
6.2. Particulares	10
7. Fungal diversity in sediments of the Mexican Pacific oxygen minimum zone revealed by metabarcoding	11
8. Discusión general	39
9. Conclusiones	43
10. Perspectivas	44
11. Literatura citada	45

## Resumen

A pesar de que las zonas mínimas de oxígeno (ZMO) representan ~8% del océano, estas regiones albergan una diversidad microbiana destacable que se desarrolla bajo presiones selectivas extremas. Por otra parte, se ha estimado que los sedimentos marinos contienen hasta un 15% de la biomasa microbiana activa de la superficie terrestre. Sin embargo, solo una fracción de esta diversidad microbiana ha sido estudiada en sedimentos de ZMO, siendo los hongos el componente menos explorado. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación consistió en evaluar la composición y diversidad de las comunidades fúngicas mediante secuenciación de la región ITS1, en cuatro estaciones muestreadas a lo largo de un transecto batimétrico (32-705 m) desde la costa hacia el mar abierto, y a dos profundidades en el sedimento (0 y 20 cm) de una ZMO del Pacífico central mexicano. Se identificaron 353 variantes de secuencia de amplicón (ASVs, por sus siglas en inglés) de hongos, con *Ascomycota* (*Dothideomycetes*) como el phylum más abundante, seguido de *Basidiomycota* (*Agaricomycetes*). Los resultados revelaron la presencia de una alta proporción de filotipos no identificados que se asemejan al *DSF-Group1*, un grupo no cultivable de hongos ampliamente distribuido en aguas profundas. Además, hubo un patrón de diversidad batimétrica, en el que las submuestras cercanas a la costa mostraron los valores de diversidad más altos quizás como resultado de las propiedades de la materia orgánica depositada, así como de la mayor concentración de oxígeno y menor profundidad en la columna de agua. Asimismo, las submuestras subsuperficiales albergaron niveles más altos de diversidad con respecto a las superficiales, evidenciando cambios en la estructura de la comunidad a pequeña escala. Este trabajo muestra que los hongos son un componente diverso en los sedimentos de las OMZ por lo que sus posibles funciones ecológicas en el ciclo de nutrientes y la desnitrificación pueden ser cruciales en los ciclos biogeoquímicos y la expansión de las OMZ.



## Abstract

Even though the oxygen minimum zones (OMZs) represent only ~8% of the ocean, these regions have a relevant influence in the marine microbial community due to their extreme conditions exerting selective pressure on diversity. On the other hand, it has been estimated that marine sediments contain up to 15% of the active microbial biomass of the Earth's surface. Nevertheless, only a fraction of this microbial diversity has been studied in sediments of the OMZ, with fungi as the least explored component. Therefore, the aim of this research was to evaluate the composition and diversity of fungal communities by sequencing the ITS1 region, in four stations sampled along a bathymetric transect (32-705 m) from the shore to offshore zones, and at two depths in the sediment (0 and 20 cm) of an OMZ of the Mexican central Pacific. We identified 353 fungal amplicon sequence variants (ASVs), with the *Ascomycota* (*Dothideomycetes*) as the most abundant phylum, followed by *Basidiomycota* (*Agaricomycetes*). The results revealed the occurrence of a high proportion of unidentified and uncultured phylotypes that resemble the *DSF-Group1*, a widely distributed group of deep-sea fungi. Moreover, there was a bathymetric diversity pattern, in which nearshore subsamples showed the highest diversity values, perhaps as a result of the properties of deposited organic matter, as well as the higher oxygen concentrations and shallower water column-depth. Similarly, subsurface subsamples harbored higher fungal diversity levels with respect to the surface ones, evidencing community structure changes at a small spatial scale. This work shows that fungi are a diverse component of OMZs sediments, so their putative ecological roles in nutrient cycling and denitrification may be crucial in biogeochemical cycles and expansion of OMZs.

## 1. Introducción general

Aproximadamente el 8% de la superficie oceánica corresponde a zonas deficientes de oxígeno ( $O_2$ ) que se presentan de manera natural (Paulmier & Ruiz-Pino, 2009). Estas zonas son conocidas como “zonas mínimas de oxígeno” (ZMO), y han sido definidas por algunos autores como las regiones oceánicas en donde la concentración de  $O_2$  disuelto es menor a  $22 \mu\text{mol kg}^{-1}$  (Levin, 2018). Las principales ZMO se ubican en el Océano Pacífico (Pacífico Sur Tropical Oriental y Pacífico Norte Tropical Oriental), y en el Océano Índico (Mar de Arabia y Bahía de Bengala; Figura 1). Generalmente, estas zonas se distribuyen en áreas caracterizadas por la combinación de una elevada productividad y la mezcla o circulación limitada debido a la fuerte estratificación de la columna de agua (Karstensen et al., 2008). Dentro de la columna de agua, las ZMO se presentan a diferentes profundidades, desde la plataforma continental hasta las zonas batiales (10 m – 1300 m), aunque principalmente se localizan entre los 100 m y 1200 m de profundidad (Levin, 2003). Cuando los niveles mínimos de  $O_2$  de estas zonas interceptan el lecho marino, se producen efectos sustanciales en la zona bentónica (Gilly et al., 2013; Levin, 2003).

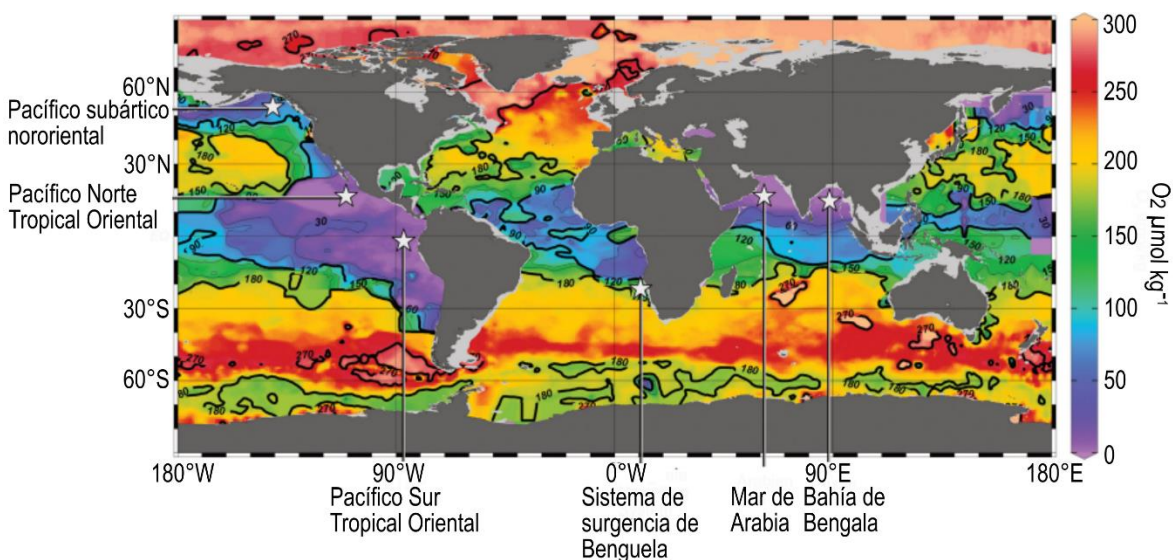


Figura 1. Distribución de las ZMO en color morado. La escala muestra la concentración de  $O_2$  ( $\mu\text{mol kg}^{-1}$ ) a 300 m de profundidad (Adaptado de “Microbial ecology of oxygen minimum zones amidst ocean deoxygenation” (p. 3), por Long et al., 2021, *Frontiers in Microbiology*).

Las ZMO tienen un impacto significativo desde el punto de vista ambiental y ecológico. Por una parte, albergan comunidades bióticas peculiares seleccionadas por un fuerte control fisiológico ejercido por la baja concentración de O<sub>2</sub> disuelto que limita la respiración aeróbica mientras promueve la desnitrificación y producción de gases de efecto invernadero (Helly & Levin, 2004; Hendrickx & Serrano, 2010; Rogers, 2000). Por otra parte, tienen consecuencias negativas sobre el ambiente marino, ya que limita la distribución de organismos no adaptados a estas condiciones, impactando la productividad de los océanos (Cepeda-Morales et al., 2009; Helly & Levin, 2004). Adicionalmente, desde el punto de vista biogeoquímico se ha evaluado el impacto de estas áreas en el ciclo del carbono, en las tasas de mineralización e intercambio de dióxido de carbono, y en el ciclo del nitrógeno, donde se ha observado que procesos tales como la desnitrificación y nitrato reducción pueden promover la liberación de gases de efecto invernadero como el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O; (Breitburg et al., 2018; Cepeda-Morales et al., 2009; Levin, 2003; Stief et al., 2014). Cabe destacar que, los escenarios basados en modelos del "océano futuro", predicen la pérdida de O<sub>2</sub> en todos los litorales como resultado del calentamiento global y cambio climático. Esto implicaría el incremento en la extensión de las ZMO (Escobar et al., 2019; Karstensen et al., 2008) con las respectivas consecuencias mencionadas.

La ZMO del Océano Pacífico es la más extensa del mundo. Esta ZMO posee anoxia en su núcleo (Tiano et al., 2014; Ulloa et al., 2012), y un alto grado de suboxia alrededor (67% del volumen del océano global) con concentraciones de O<sub>2</sub> disuelto menores a 20 µmol L<sup>-1</sup> (Escobar et al., 2019; Hendrickx & Serrano, 2010). En el Pacífico mexicano, la ZMO abarca casi toda la Zona Económica Exclusiva de México (ZEEM), con excepción del extremo norte del Golfo de California. Esta ZMO representa más de 1.5 veces el área del territorio nacional mexicano y tiene concentraciones de O<sub>2</sub> disuelto por debajo del límite de detección (<0.1 µmol L<sup>-1</sup>) a profundidades de agua media (~100–700 m; Tiano et al., 2014). Asimismo, se considera la ZMO somera más grande a nivel mundial (Sánchez-Pérez et al., 2021). Si bien las profundidades a las que se encuentran las ZMO varían según la latitud, la ZMO ubicada frente a la costa de Mazatlán se puede encontrar desde los 38 m (Papiol et al., 2017), con un espesor que permanece casi constante y fluctúa entre 1,100 y 1,200 m (Zamorano et al., 2014). A pesar de esta extensión y relevancia, carecemos de información de línea base en

torno a las comunidades microbianas asociadas a la ZMO de la costa de Mazatlán, particularmente de la fracción eucariota (micobiota).

### **1.1 Diversidad fúngica en ambientes marinos**

Los hongos son organismos cosmopolitas quimioorganoheterótrofos que desempeñan un rol ecológico esencial principalmente como descomponedores de la materia orgánica. En ambientes marinos, los pioneros en su estudio fueron Johnson y Sparrow en 1961, seguidos de Barghoorn y Linder en 1944. Desde entonces, la diversidad fúngica se ha explorado principalmente en ambientes costeros como playas marinas arenosas (Velez et al., 2021; Velez, Walker, et al., 2022), arrecifes (Amend et al., 2012; Roik et al., 2022) o manglares (Devadatha et al., 2021; Jones et al., 2020; Lee et al., 2019). No obstante, su estudio en ecosistemas oceánicos extremos como el mar profundo, ventilas hidrotermales o las ZMO (Jebaraj et al., 2010; Nagano et al., 2010; Nagano & Nagahama, 2012; Raghukumar et al., 2004; Wei et al., 2018; Xu et al., 2014; Zhang et al., 2016) ha sido reciente gracias al advenimiento de la “era molecular”. Como resultado de esta era, las técnicas independientes de cultivo han revelado una enorme diversidad, misma que había sido subestimada con los métodos dependientes de cultivo.

Conforme ha avanzado el estudio de la micología marina, también se ha ido modificando la definición de hongo marino. La definición actual consensuada establece que un hongo marino es cualquier hongo que se recolecta repetidamente en los hábitats marinos porque: 1) puede crecer y/o esporular (en sustratos) en ambientes marinos; 2) forma relaciones simbióticas con otros organismos marinos; o 3) se adapta y evoluciona o es metabólicamente activo en ambientes marinos (Pang et al., 2016). Con base en esta definición, la micobiota (diversidad de hongos) registrada en el sedimento bentónico podría ser considerada como marina.

De acuerdo con estimaciones basadas en enfoques independientes de cultivo, incluyendo la secuenciación de marcadores como el espaciador transcrito interno (ITS, por sus siglas en inglés), se ha sugerido que la diversidad fúngica global oscila entre 6 y 12 millones de especies (Baldrian et al., 2022; Wu et al., 2019). Sin embargo, a la fecha únicamente se han

descrito alrededor de 155,459 ([www.speciesfungorum.org](http://www.speciesfungorum.org); 17 de enero de 2023) especies, de las cuales tan solo se conocen 1,857 especies marinas ([www.marinefungi.org](http://www.marinefungi.org); 17 de enero de 2023). La mayoría de las especies marinas descritas pertenecen al phylum *Ascomycota*, donde los linajes principales son *Halosphaeriales*, *Lulworthiales*, *Torpedosporales* y *Koralionastetales* (Jones et al., 2015). En menor proporción, se han aislado miembros del phylum *Basidiomycota*, *Zygomycota*, *Chytridiomycota* y *Cryptomycota* (Walker et al., 2017). Se estima que existen alrededor de 10,000 especies de hongos marinos (Jones, 2011), lo cual pone de manifiesto el desconocimiento de la diversidad fúngica en estos ambientes comparado con la presencia de otros microorganismos.

## 1.2 Diversidad fúngica en ZMO

Previo a la exploración de la diversidad fúngica en ZMO, se consideraba que los únicos organismos capaces de sobrevivir bajo condiciones limitadas de O<sub>2</sub> eran los procariotas. Fue hasta 1992 que se registró la capacidad de *Fusarium oxysporum*, *Cylindrocarpon tonkinense*, y *Aspergillus oryzae* para emplear compuestos de nitrógeno como estrategia de respiración alternativa ante la limitación de O<sub>2</sub> (Shoun et al., 1992). Se demostró así que los hongos tienen adaptaciones, tanto en su estructura como en su bioquímica, para sobrevivir en ambientes marinos extremos con concentraciones de O<sub>2</sub> variantes y al mismo tiempo condiciones ambientales distintas (como alta presión, alta salinidad o baja temperatura; (Cathrine & Raghukumar, 2009; Jebaraj et al., 2010; Manohar et al., 2014; Peng & Valentine, 2021).

En algunas ZMO se ha registrado el proceso de desnitrificación fúngica en *Tritirachium candoliense* sp. nov. (Manohar et al., 2014) y *Aspergillus terreus* (Stief et al., 2014). Además, se ha propuesto que *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Tritirachium* sp., *Byssoschlamys* sp., y *Paecilomyces* sp. también podrían ser capaces de llevar a cabo estos procesos (Cathrine & Raghukumar, 2009). La desnitrificación es un proceso común en sedimentos anóxicos, donde los hongos han evidenciado una vía de desnitrificación incompleta que predominantemente produce N<sub>2</sub>O (Manohar et al., 2015). Recientemente, en un estudio realizado en la ZMO del Pacífico, se ha estimado que los hongos podrían ser

responsables de la liberación de hasta un 18% de N<sub>2</sub>O hacia la atmósfera (Peng & Valentine, 2021). Esto último es relevante, si consideramos que se trata de un potente gas de efecto invernadero que podría contribuir significativamente al calentamiento global.

Aún no se sabe con certeza si los hongos que habitan en las ZMO desempeñan las funciones ecológicas reconocidas en otros ambientes, o si utilizan diferentes estrategias para sobrevivir (Figura 2). Selosse et al. (2018) han planteado la capacidad de los hongos para cambiar su función ecológica y cada vez hay más evidencia de su capacidad para abarcar múltiples dimensiones de tiempo, espacio e interacciones biológicas que les han permitido colonizar distintos ecosistemas (Bahram & Netherway, 2022). Con base en un estudio reciente realizado en una ZMO del Golfo de California en México (Velez, Salcedo, et al., 2022), es posible asumir que en las ZMO los hongos se pueden desempeñar como: 1) patógenos, actuando como parásitos que dañan las células de otros organismos y obtienen sus nutrientes de estos, 2) saprótrofos o descomponedores de materia orgánica, contribuyendo a los ciclos de nutrientes y desempeñando un rol indispensable en los ecosistemas marinos, y 2) simbiótrofos, asociándose con otros organismos con los que mantienen un intercambio de nutrientes y un beneficio mutuo. Particularmente, se han registrado patógenos como *Chytridiomycota* (parásito de algas microscópicas), o como *Alternaria alternata*, *Exobasidium gracile*, *Cryptococcus* sp., *Cystofilobasidium* sp., *Mortierella wolfii*, *Rhizophyidium* sp., o *Malassezia restricta*. En menor proporción, se han registrado a posibles saprótrofos como *Globulicium hiemale*, *Neurospora crassa*, miembros del género *Armillaria* y *Penicillium*, y algunos *Agaricomycetes*. Finalmente, y en menor abundancia, se han registrado a probables simbiótrofos como *Geosmithia namyslowskii* (Gutiérrez et al., 2010; Jebaraj et al., 2010, 2012; Manohar et al., 2015; Rojas-Jimenez et al., 2020; Vera et al., 2017).

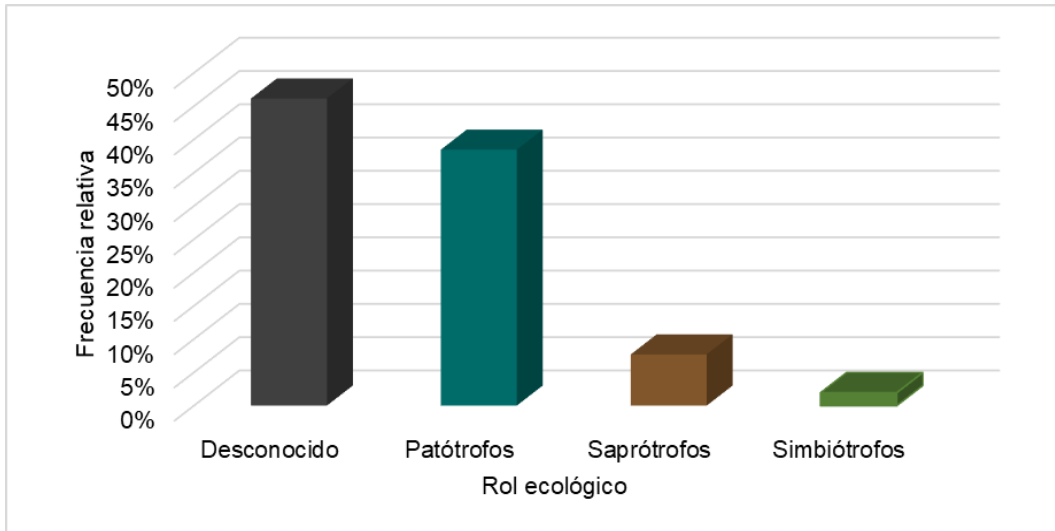


Figura 2. Frecuencia de los potenciales roles ecológicos fúngicos en las ZMO definidos con base en 23 investigaciones previas (2004-2021).

## 2. Antecedentes

La mayor parte de los estudios realizados sobre la diversidad fúngica en ZMO se ha llevado a cabo en el Océano Índico (Cathrine & Raghukumar, 2009; Jebaraj et al., 2010; Manohar et al., 2014, 2015; Stief et al., 2014), seguido del Océano Pacífico Sur (Gutiérrez et al., 2010, 2020; Vera et al., 2017), y el Océano Pacífico Norte (Peng & Valentine, 2021; Velez, Salcedo, et al., 2022; Figura 3). No obstante, la ZMO del Océano Pacífico en la costa de Mazatlán permanece sin explorar.

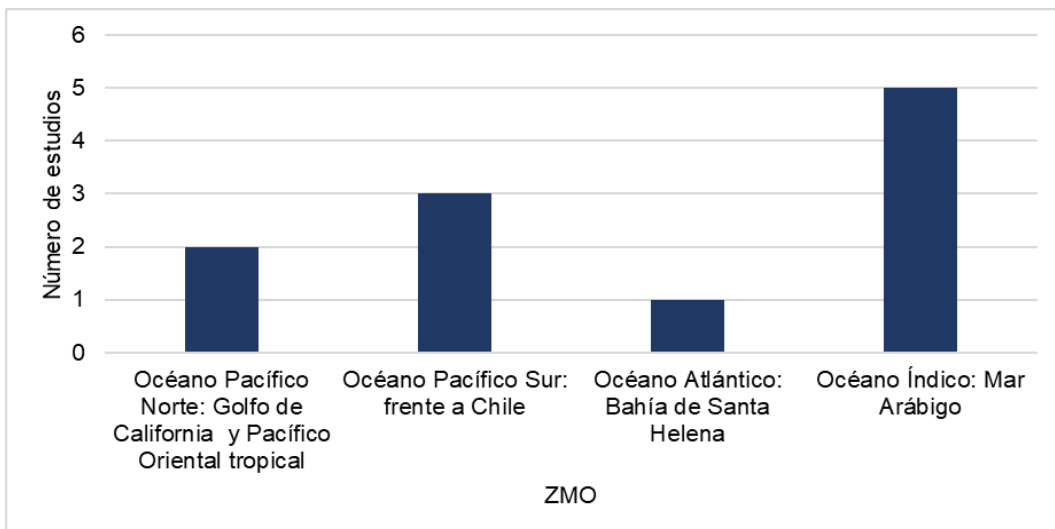


Figura 3. Número de estudios seleccionados sobre la diversidad fúngica en las ZMO, obtenidos a partir de una revisión bibliográfica exhaustiva mediante el buscador Google Académico, que abarcó el periodo de 2005-2020.

Mediante enfoques dependientes de cultivo, se ha registrado la presencia de *Aspergillus terreus*, *Aspergillus* sp., *Humicola* sp. y *Tritirachium candoliense* en sedimentos costeros del Mar Árabe (Cathrine & Raghukumar, 2009; Stief et al., 2014). Por su parte, a través de enfoques independientes de cultivo, se ha registrado la presencia de *Penicillium namyslowskii*, *Fusarium oxysporum* y la levadura *Kodamaea* sp. (Cathrine & Raghukumar, 2009; Jebaraj et al., 2010). Además, se han encontrado una serie de nuevos linajes dentro de *Ascomycota* y *Basidiomycota* relacionados con *Entorrhiza* sp., *Penicillium chrysogenum*, *Phoma* sp., *Cladosporium* sp., y *Geomyces* sp. (Jebaraj et al., 2010). De hecho, muchas de las secuencias ambientales que se han agrupado lejos de los taxones fúngicos conocidos, han formado clados ambientales nuevos. Así, dentro de *Ascomycota* se encuentra el grupo clon de *Pezizomycotina* (PCG, por sus siglas en inglés) relacionado con *Penicillium* sp., *Eupenicillium* sp. y *Aspergillus* sp. (Dawson & Pace, 2002; Manohar & Raghukumar, 2013); y también se encuentra *Saccharomycotina* con secuencias ambientales que forman el grupo fúngico de fondo marino I (DSF-Group1, por sus siglas en inglés) estrechamente relacionado con la levadura *Metschnikowia bicuspidata* (Nagano et al., 2010; Thaler et al., 2012). En el caso de *Basidiomycota*, en *Ustilaginomycotina* se han detectado nuevas secuencias ambientales incluidas en el grupo fúngico hidrotermal y/o anaeróbico (grupo Hy-An, por sus siglas en inglés) que es taxonómicamente cercano a *Malassezia* sp., un hongo patógeno común en ambientes marinos. También se han identificado linajes fúngicos basales como el grupo de clones basales (BCG I, por sus siglas en inglés), o el grupo LKM11 estrechamente relacionado con el clado fúngico *Cryptomycota* (Nagahama et al., 2011; Thaler et al., 2012). Estos clados basales se han asociados predominantemente con ambientes anóxicos y podrían ser la clave para comprender la historia evolutiva fúngica debido a su divergencia temprana. Los hongos filamentosos como *Glomeromycota*, *Blastocladiomycota* y *Neocallimastigomycota*, aún no se han identificado con estudios moleculares (Manohar & Raghukumar, 2013).



Adicionalmente, la diversidad fúngica se ha registrado a diferentes profundidades en el sedimento marino (Feng et al., 2021; Nagano et al., 2010, 2016; Raghukumar et al., 2004; Singh et al., 2011), oscilando desde unos pocos centímetros por debajo del fondo marino (cmbsf, por sus siglas en inglés) hasta 2,457 metros por debajo del fondo marino (mbsf, por sus siglas en inglés); incluso se ha detectado su actividad metabólica hasta 346 mbsf (Edgcomb et al., 2011; Orsi, Biddle, et al., 2013; Pachiadaki et al., 2016; Rédou et al., 2014). Entre los hongos identificados con más frecuencia en estos estudios se encuentran *Aspergillus* sp. en profundidades desde 3.7 hasta 403 mbsf (Nagano et al., 2016; Raghukumar et al., 2004; Rédou et al., 2015), *Aspergillus sydowii* y *Cladosporium sphaerospermum* a 2457 mbsf (Liu et al., 2017), así como *Pichia* sp., *Cadophora* sp, y dos posibles clados nuevos pertenecientes a *Ascomycota* en profundidades de hasta 40 mbsf (Nagano et al., 2016).

Los hongos en sedimentos subsuperficiales pueden quedar enterrados por largos periodos de tiempo según la tasa de sedimentación en el área de estudio (a una mayor deposición de sedimentos en el tiempo, los microorganismos de capas superficiales se entierran gradualmente en capas más profundas; Raghukumar et al., 2004). Esto podría suponer la existencia de ADN fosilizado; no obstante, el aislamiento de *Aspergillus sydowii* a partir de sedimentos de ~0.43 millones de años (370 cmbsf) en el Océano Índico (Raghukumar et al., 2004), así como de *Aspergillus sydowii* y *Cladosporium sphaerospermum* a partir de sedimentos de ~20 millones de años (2,457 mbsf) en el Océano Pacífico (Liu et al., 2017), sugieren la capacidad de supervivencia a largo plazo de estos microorganismos. Esta información es relevante porque puede contribuir al conocimiento de la biosfera marina del subsuelo, supervivencia microbiana a largo plazo, evolución y biotecnología, entre otras áreas.

### **3. Justificación e importancia**

La ZMO en la ZEEM del Océano Pacífico representa un ecosistema extremo completamente inexplorado en términos de su microbiota. Por lo tanto, se desconoce su composición

taxonómica, funciones ecológicas y patrones geográficos, así como sus capacidades fisiológicas. En esta investigación se evalúa la composición y diversidad de las comunidades fúngicas mediante un enfoque independiente de cultivo, en muestras recolectadas a lo largo de un transecto batimétrico y a dos profundidades (0 y 20 cm) en el sedimento de una ZMO del Pacífico central mexicano. Esta información es crucial para tener una aproximación basal de la diversidad fúngica de la ZMO ubicada frente a Mazatlán, la cual puede dar pauta a la comprensión de sus dinámicas tróficas, nutrientes, y potencial respuesta a diversos escenarios de calentamiento global.

#### **4. Preguntas de investigación**

- a) ¿Cuál es la composición de las comunidades fúngicas de los sedimentos de una ZMO en el Pacífico central mexicano?
- b) ¿Cómo cambia la diversidad fúngica a lo largo de un transecto batimétrico, y a dos profundidades en el sedimento?
- c) ¿La diversidad fúngica está asociada con las variables ambientales medidas en la columna de agua (profundidad, O<sub>2</sub> disuelto, temperatura o salinidad) o en el sedimento (carbono orgánico y pH)?

#### **5. Hipótesis**

- a) La composición de las comunidades fúngicas estará dominada por *Ascomycota*, seguida de *Basidiomycota*, y otros linajes basales con base en lo registrado para otros ambientes marinos deficientes de O<sub>2</sub>.
- b) La diversidad fúngica variará entre estaciones de muestreo dentro del transecto batimétrico, aumentando cerca de la costa por la acumulación de materia orgánica. Por su parte, entre submuestras superficiales y subsuperficiales esta diversidad variará debido a las diferentes propiedades del sedimento depositado.
- c) Los patrones de distribución de las comunidades fúngicas estarán relacionados con la concentración de O<sub>2</sub> disuelto en la columna de agua y el porcentaje de carbono orgánico en el sedimento.

## **6. Objetivos**

### **6.1 General**

Evaluar la composición y diversidad de las comunidades fúngicas, mediante secuenciación de la región ITS1, en muestras recolectadas a lo largo de un transecto batimétrico y a dos profundidades en el sedimento de una ZMO del Océano Pacífico (costa de Mazatlán), ZEEM.

### **6.2 Particulares**

- a) Analizar la composición taxonómica de las comunidades fúngicas en muestras de sedimento recolectadas en la ZMO del Pacífico central mexicano mediante secuenciación masiva Illumina MiSeq.
- b) Estimar la diversidad fúngica del sedimento recolectado en esta ZMO.
- c) Identificar los patrones de diversidad fúngica a lo largo de un transecto batimétrico desde la costa hacia mar abierto, y a dos profundidades en el sedimento.
- d) Explorar la relación de los patrones de diversidad fúngica con las variables ambientales.

## 7. Fungal diversity in sediments of the Mexican Pacific oxygen minimum zone revealed by metabarcoding

En la siguiente sección se presentan los resultados de la investigación en forma de un artículo científico, el cual está programado para su envío y posible publicación en la revista *Fungal Ecology*: Posadas J, Velez P, Pajares-Moreno S, Gasca-Pineda J, Espinosa-Asuar L. Fungal diversity in sediments of the eastern central Pacific oxygen minimum zone revealed by metabarcoding.

### Abstract

Oxygen minimum zones (OMZs) represent ~8% of the ocean, with the Pacific as the top expanding area. These regions have a relevant influence in microbial communities due to the characteristic extreme conditions of their environment that exert selective pressures on diversity. Nevertheless, microeukaryotes have been poorly studied, hinting at the large contribution of fungi to diversity in OMZs. We analyzed fungal composition and diversity in surface and subsurface sediment samples across a bathymetric transect using metabarcoding of the ITS1 region in the Mexican Pacific OMZ. We report 353 amplicon sequence variants, within the *Ascomycota*, *Basidiomycota*, and *Rozellomycota*. Our data revealed the occurrence of a high proportion of unidentified, uncultured phylotypes resembling the *DSF-Group1*. Spatial patterns evidenced higher alpha diversity levels in nearshore and subsurface subsamples, probably due to temporal fluctuations in organic matter inputs. Furthermore, small-scale heterogeneity characterized the communities with the majority of ASVs (269 of 353 ASVs) occurring in a single subsample. Our results evidence that this OMZ is a suitable niche for fungal proliferation that should be further explored in order to attain a complete picture of subsurface ecosystem functioning and that allows us to predict possible expansion scenarios as a consequence of climate change.

**Keywords:** anoxic zone, coastal mycodiversity, deep-sea mycobiota, fungi in sediments, offshore ecology

## 1. Introduction

Oxygen minimum zones (OMZs) are oceanic regions with very low oxygen concentrations ( $<22 \mu\text{mol kg}^{-1}$ ; Levin, 2018). They are estimated to cover ~8% of the oceanic surface and ~1% of its volume, with the lowest oxygen concentrations occurring in the Pacific and in the Indian Oceans (Paulmier & Ruiz-Pino, 2009; Ulloa & Pantoja, 2009). Despite their low coverage, the OMZs may cause an increase in denitrification and up to 50% of the loss of globally fixed nitrogen, limiting global productivity and releasing a powerful greenhouse gas (nitrous oxide) into the atmosphere (Deutsch et al., 2011). These regions are usually produced as a consequence of the joint effect of physical, chemical, and biological processes such as thermal stratification, poor ocean circulation, limited oxygen air-sea exchange, low solubility of oxygen at high temperatures, and the upwelling of nutrient-rich waters to the surface that drives biological productivity and therefore oxygen consumption (Helly & Levin, 2004; Karstensen et al., 2008; Paulmier & Ruiz-Pino, 2009) causing shifts in the benthic community structure (Møller et al., 2022; Papiol et al., 2017).

The OMZs are dominated by microbes (Bertagnolli & Stewart, 2018), as most multicellular organisms are negatively affected due to oxygen deficiency that exerts strong selective pressures (Long et al., 2021). Nonetheless, the diversity of microeukaryotes, particularly fungi, remains underappreciated (Levin, 2018) despite their large contribution to diversity in OMZs (Jebaraj et al., 2010; Mouton et al., 2012). In early culture-based investigations, the copious occurrence of fungi in sediments of OMZs has been reported (Cathrine & Raghukumar, 2009; Jebaraj et al., 2010; Manohar et al., 2014; Mouton et al., 2012). These isolates have shown the ability to grow under anoxic conditions in the laboratory (Cathrine & Raghukumar, 2009), as well as an active role in oceanic nitrogen and carbon cycles (e.g., (Cathrine & Raghukumar, 2009; Gutiérrez et al., 2010; Manohar et al., 2014, 2015; Stief et al., 2014). Nevertheless, the identification of some fungal groups is arduous because they are not easily cultured. In fact, it has been mentioned that the fungal diversity is underestimated up to 8.8 times with culture-dependent approaches in relation to culture-independent approaches (Wu et al., 2019). Furthermore, with the growing environmental DNA studies, it has been shown that fungal richness is higher than previously thought and that there is a large

proportion of unknown taxa in this extreme marine environment (Jebaraj et al., 2012; Manohar & Raghukumar, 2013).

Environmental DNA studies, including high-throughput Illumina sequencing of the internal-transcribed spacer (ITS) region, have revealed the presence of abundant uncultured fungal phylotypes and environmental clusters in the OMZs of the Indian, Atlantic and Pacific oceans within the *Ascomycota*, such as the *Pezizomycotina* clone group (PCG) and the deep-sea fungal group-1 (DSF-Group1), and the *Basidiomycota*, including the hydrothermal and/or anaerobic fungal group (Hy-An Group; Jebaraj et al., 2010; Manohar & Raghukumar, 2013; Nagano et al., 2010). In addition, this approach has allowed the thorough description of fungal communities, evidencing the dominance of members in the *Ascomycota*, *Basidiomycota* (Cathrine & Raghukumar, 2009; Jebaraj et al., 2010; Manohar et al., 2015; Mouton et al., 2012; Velez, Salcedo, et al., 2022), and basal fungal lineages (Manohar & Raghukumar, 2013; Rojas-Jimenez et al., 2020). These findings suggest that OMZ harbor a large proportion of undescribed fungal taxa.

Fungal communities in surface sediments sampled along a bathymetric transect have shown changes in their composition as has been reported in the Peru Margin, Peru Trench (Edgcomb et al., 2011), Western Pacific Ocean (Zhang et al., 2016), and Eastern Tropical Pacific Ocean (Rojas-Jimenez et al., 2020); however, surface sediments along the South China Sea (Feng et al., 2021) were similar to each other in fungal diversity. Overall, bathymetric patterns have revealed that fungal diversity is higher in nearshore stations than offshore benthic sites (Gutiérrez et al., 2010, Barone et al., 2018; Sumathi & Raghukumar, 2009), perhaps due to the sediment source (Feng et al., 2021; Manohar & Raghukumar, 2013; Mouton et al., 2012; Rédou et al., 2015; Sumathi & Raghukumar, 2009), geographic distance or site-specific environmental factors such as water depth (Tisthammer et al., 2016), temperature of bottom water (Li et al., 2016) or nutrients ((Barone et al., 2018).

The occurrence of fungi has been also recently highlighted in subsurface sediments, such as those in the Canterbury Basin (Ciobanu et al., 2014; Rédou et al., 2014, 2015), Suruga-Bay (Nagano et al., 2016), and Peru Margin (Pachiadaki et al., 2016). In agreement with these

studies, fungi have been considered the dominant eukaryotic kingdom (Edgcomb et al., 2011) and the third most abundant microbial component (after Bacteria and Archaea; (Rédou et al., 2014) of subsurface sediments. Fungal composition has evidenced high variability within the vertical gradients of sediments at small-scale (<100 cm below seafloor or cmbsf; Rojas-Jimenez et al., 2020; Singh et al., 2012) and large-scale (>100 cmbsf; Edgcomb et al., 2011; Feng et al., 2021; Rédou et al., 2014), suggesting the possible influence of site-specific conditions.

Herein we analyzed fungal community composition and diversity in surface and subsurface sediment samples collected in four stations across a bathymetric transect in the OMZ of the Mexican Pacific using high throughput sequencing of the ITS1 region. We hypothesize that: 1) sediments in this OMZ will harbor a high fungal diversity dominated by the *Ascomycota*, 2) the highest diversity levels will be observed in nearshore stations, and 3) community composition will vary at the small-scale.

## **2. Materials and methods**

### ***Study area, sampling, and chemical analyses***

We sampled sediment cores along a transect off the Port of Mazatlan, within the OMZ of the Mexican Pacific (Fig. 1) that is part of the eastern tropical North Pacific. This region comprises the largest OMZ in the world (Paulmier & Ruiz-Pino, 2009) with a functionally anoxic core (Tiano et al., 2014), it is one of the major sites of water column denitrification (DeVries et al., 2012) and it is one of the productive areas that has recorded a greater loss of oxygen in the global ocean during the last 40 years (DeVries et al., 2012; Horak et al., 2016).

We collected sediment samples with a multicore during the oceanographic cruise “MazV” in April 2019 on board the R/V “El Puma” of the National Autonomous University of Mexico (UNAM) across a bathymetric gradient in four stations (from the coast to offshore covering 36 km; Table 1). Onboard, we aseptically obtained subsamples from the surface (0-10 cm) and the subsurface (10-20 cm) of each core, except for station S2 that was only recovered superficially due to technical issues and sampling difficulties in the presence of solid rock.

We stored the subsamples in sterile 15 mL polypropylene tubes at  $-80^{\circ}\text{C}$  in absolute dark until their processing in the laboratory (within the next 48 h) for DNA extraction.

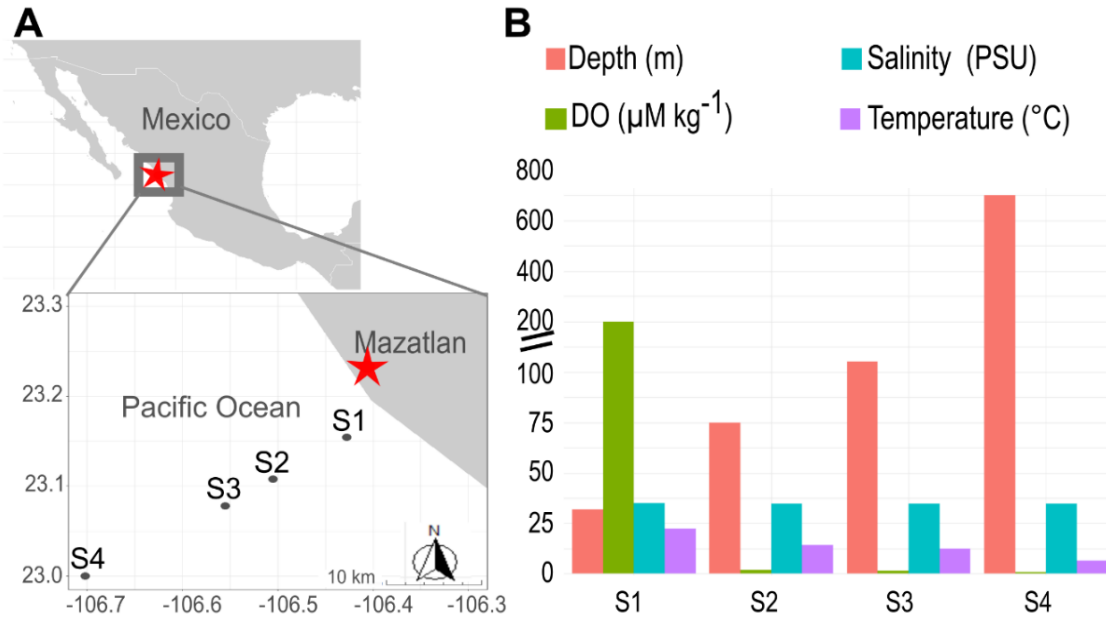


Figure 1. Map of the study region, depicting the distribution of the sampling stations along the transect (A). The bar plot represents the values of the variables measured at the bottom of the water column (overlying the sediments) at each station (B).

To analyze pH and organic carbon (OC), we used a dry fraction of the sediment subsamples. We measured pH using a sediment:water ratio of 1:2.5 with a pH meter (Hanna Mod. HI2020-01). To estimate the percentage of OC, we used the modified Walkley-Black method, which consists of exothermic heating and oxidation with potassium dichromate and sulfuric acid (Loring & Rantala, 1992). Moreover, overlying the sediment cores from each station, we measured the concentration of dissolved oxygen (DO), temperature, and salinity using a conductivity-temperature-depth (CTD; SeaBird 19 plus) sensor coupled to a rosette on the R/V “El Puma”. As DO, temperature, and salinity were only measured in the water overlying surface sediments, we suggest considering their measurement in subsurface sediments for subsequent studies.



Table 1. Stations where sediment subsamples were collected in the OMZ of the Mexican Pacific.

Stations	Subsamples	Latitude	Longitude	Depth (m)	Distance from the coast (km)
S1	S1.0	23° 9' 15.90"	-106° 25'	32	4
	S1.20		40.38"		
S2	S2.0	23° 6' 27.42"	-106° 30' 19.38"	75	13
S3	S3.0	23° 4' 40.80"	-106° 33'	105	19
	S3.20		19.02"		
S4	S4.0	23° 0' 0"	-106° 42'	705	36
	S4.20		7.98"		

#### ***DNA Extraction, amplification and sequencing***

We obtained environmental DNA for each subsample (0.25 g) employing the DNeasy PowerSoil kit (Qiagen, Carlsbad, CA, United States) and following the guidelines provided by the manufacturer. To quantify the DNA, we used a Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen by Life Technologies). The Genomic Services Laboratory (LANGEBIO, Irapuato, Mexico) performed Illumina MiSeq paired-end ( $2 \times 300$ ) sequencing, targeting the ITS1 of the ribosomal RNA gene cluster with the primers set ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') and ITS2 (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'; Gardes & Bruns, 1993; White et al., 1990). As a result, we yielded to around 25,000 reads per subsample. The dataset is available at NCBI Sequence Read Archive under the BioProject PRJNA822656.

#### ***Bioinformatics analyses***

We processed Illumina raw reads with the ITS-specific variation DADA2 v1.18.0 (Callahan et al., 2016) of the R statistic package (R Core Team, 2021). Briefly, we inspected read quality profiles, removed ambiguous bases (maxN=0) with <1 expected errors (maxEE=c(1,1)), and then removed primer and adapter sequences with cutadapt (Martin,

2011). Next, we inferred the amplicon sequence variants (ASVs) for each subsample considering the specific error rates based on quality scores. To assemble paired-end reads, we considered 50 pb as minimum overlap without allowing mismatches. To remove chimeras, we used the DADA2 function “removeBimeraDenovo”. To assign taxonomy to the ASVs, we used the trained classifier IDTAXA (Murali et al., 2018) of DECIPHER v2.18.1 Bioconductor package (Wright, 2016) against the eukaryotic database “UNITE v2020 February 2020” (Nilsson et al., 2019). We filter the ITS dataset to keep only the fungal reads. To avoid the ASVs overestimation at the species level, we reclustered these assignments using CD-HIT, V4.7 program (Fu et al., 2012) with a threshold of 98% (Lücking et al., 2020). Lastly, we assessed the sampling effort using rarefaction and extrapolation curves with the R package iNEXT v2.0.20 (Hsieh et al., 2020).

### ***Composition and diversity analyses***

To depict the relative abundance and shared taxa among subsamples, we used the R packages ggplot2 (Wickham, 2016), complexHeatmap (Gu & Hübischmann, 2022), and UpSetR (Conway et al., 2017). The heatmaps combined with dendrograms of hierarchical agglomerative clustering (based on Bray-Curtis dissimilarity matrix) showed the clustering of fungi by subsample according to their relative abundance. To evaluate alpha diversity, we estimated the rarefied Shannon diversity using iNEXT v2.0.20 (Hsieh et al., 2020) along with their bootstrap 95% confidence intervals (1,000 replicates), and the Pielou evenness using the R package “vegan” v2.5-7 (Oksanen et al., 2020). We estimated the differences in beta diversity across subsamples through the Bray-Curtis (abundance-based) and Jaccard (presence-absence) dissimilarities. To draw both dissimilarity matrices, we employed the Ward’s clustering method. To represent community dissimilarities among subsamples in terms of environmental setting, we performed a constrained correspondence analysis (CCA) using the function “ordistep” (from package “vegan”), which performed a stepwise selection of explanatory variables including the selection of significant variables ( $P = 0.05$ ).

### 3. Results

#### *Environmental conditions*

The DO concentration at the bottom water (overlying the sediments) decreased towards the open sea ranging from 208  $\mu\text{mol kg}^{-1}$  (coastal station S1) to 0.97  $\mu\text{mol kg}^{-1}$  (offshore station S4). Salinity and temperature followed the same pattern as DO, ranging from 35 PSU (S1) to 34.53 PSU (S4), and 22.2 °C (S1) to 6.6 °C (S4), respectively (Fig. 1). Regarding sediment subsamples, pH was higher in the subsurface subsamples of the stations S1 and S4, ranging from 7.5 (subsampling S4.0) to 8.3 (subsampling S1.20). Likewise, the OC was higher in the subsurface subsamples of the stations S1 and S4, showing an increase towards the open sea ranging from 0.86 (subsampling S1.0) to 8.2 (subsampling S4.20).

#### *Fungal community composition*

All of the rarefaction and extrapolation curves of the 313,294 ITS1 assembled sequences in the sediment subsamples reached the asymptote (Fig. 2), indicating that the sequencing depth was adequate. Overall, we inferred a total of 518 fungal ASVs (151,925 sequences), which were grouped into 353 ASVs at the species level after the CD-HIT analysis.

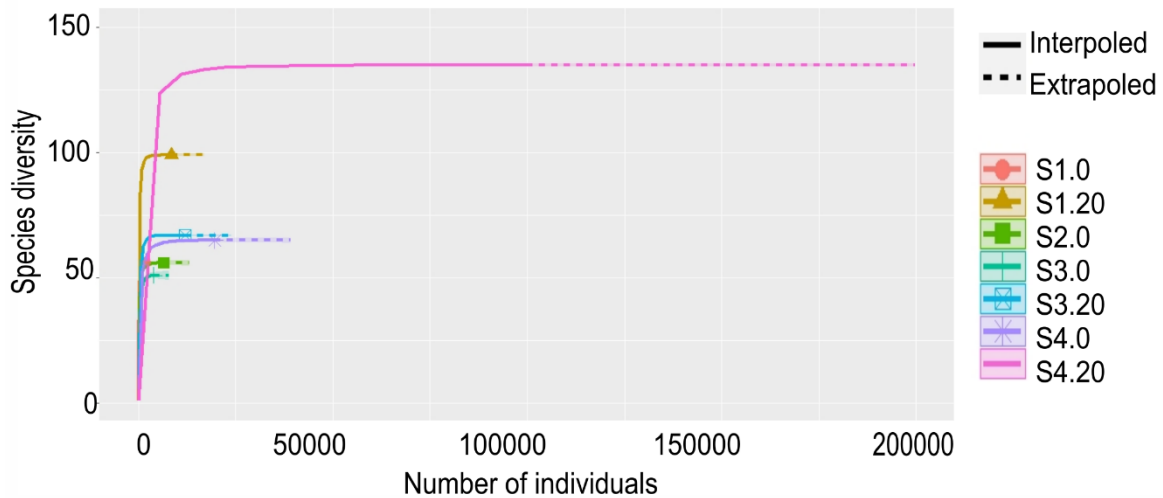


Figure 2. Rarefaction curves of fungal ASVs, where all curves reached the plateau. The nomenclature of subsamples is indicated in Table 1.

The ASVs belonged to three phyla, 14 classes, 33 orders, 69 families, and 80 genera. The *Ascomycota* represented the most abundant phylum among all sediment subsamples, accounting 236 ASVs (73.21% of the relative abundance of identified sequences; Fig. 3) with *Dothideomycetes* as the dominant class (46.87% of identified sequences), followed by *Sordariomycetes* (14.91% of identified sequences) and *Eurotiomycetes* (4.80% of identified sequences). The *Basidiomycota* was the second most abundant phylum with 79 ASVs (26.75% of identified sequences), with *Agaricomycetes* (24.75% of identified sequences) as the most abundant class, followed by *Malasseziomycetes* (1.03% of identified sequences), and *Ustilaginomycetes* (0.67% of identified sequences). The basal clade *Rozellomycota* was the least abundant with 2 ASVs (0.04% of identified sequences). Furthermore, 69.01% of the relative abundance of all sequences corresponded to unidentified phyla. Both *Ascomycota* and *Basidiomycota* were detected in all the subsamples varying in their relative abundance, yet *Rozellomycota* was only detected in the subsamples S1.0 and S3.20.

The top abundant families were *Didymosphaeriaceae* (31.93% of the relative abundance of identified sequences), *Lycoperdaceae* (7.29% of identified sequences), *Agaricaceae* (5.96% of identified sequences), *Stachybotryaceae* (4.79% of identified sequences), *Aspergillaceae* (3.84% of identified sequences), *Xylariaceae* (3.66% of identified sequences), *Periconiaceae* (3.57% of identified sequences), and *Hypocreaceae* (2.36% of identified sequences). At the genus level, the top abundant genera were *Paraphaeosphaeria* (29.98% of identified sequences), *Agaricus* (5.96% of identified sequences), *Periconia* (3.57% of identified sequences), *Lycoperdon* (2.75% of identified sequences), *Penicillium* (2.71% of identified sequences), *Trichoderma* (2.36% of identified sequences), and *Hypoxylon* (2.16% of identified sequences).

At the species level, 36 fungal ASVs (accounting for 69.01% of relative abundance of all sequences), could only be taxonomically assigned at the kingdom level as *Fungi* spp. (Fig. 4), with two dominant ASVs, *Fungi* sp. 346 (54.53% of all sequences) and *Fungi* sp. 347 (10.14% of all sequences), accounting for 64.67% of all sequences. Dominant ASVs also

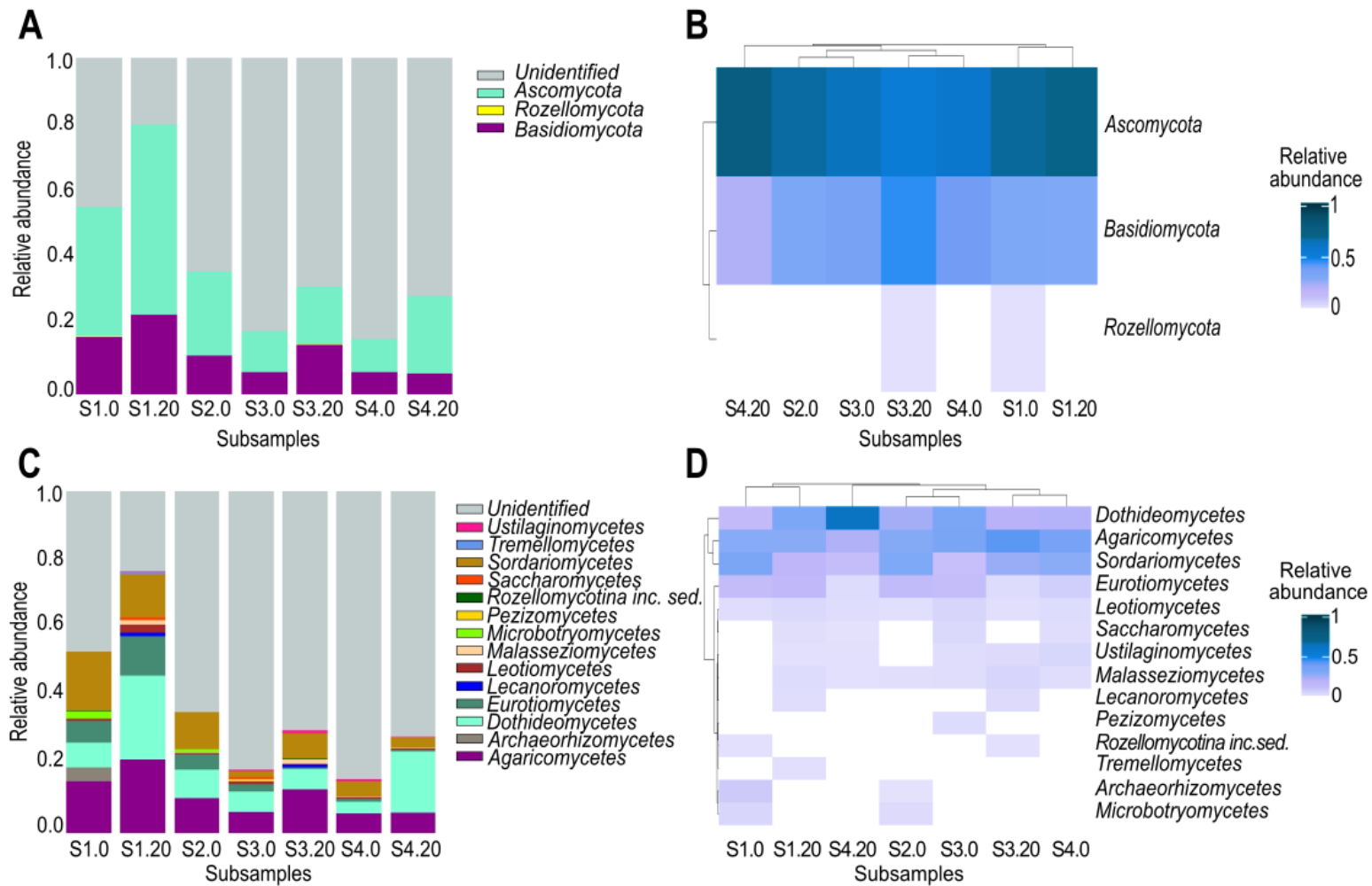


Figure 3. Relative abundance of fungal phyla and classes across subsamples. Stacked bar plots depicted the fungal relative abundances at the phylum (A) and class (C) level of the taxa across subsamples, and heatmaps showed the fungal richness (horizontal lines in each subsample) and their relative abundance (light blue-navy blue coded lines) at the phylum (B) and class (D) level across subsamples.

included *Paraphaeosphaeria* sp. 130 (4.29% of all sequences), *Paraphaeosphaeria angularis* (1.63% of all sequences), *Fungi* sp. 37 (1.50% of all sequences), *Paraphaeosphaeria michotii* (1.48% of all sequences), *Paraphaeosphaeria* sp. 136 (1.46% of all sequences), *Fungi* sp. 286 (0.72% of all sequences), and *Ascomycota* sp. 226 (0.67% of all sequences). Remarkably, 285 ASVs (9.01% of all sequences) were rare taxa (<0.1% relative abundance each).

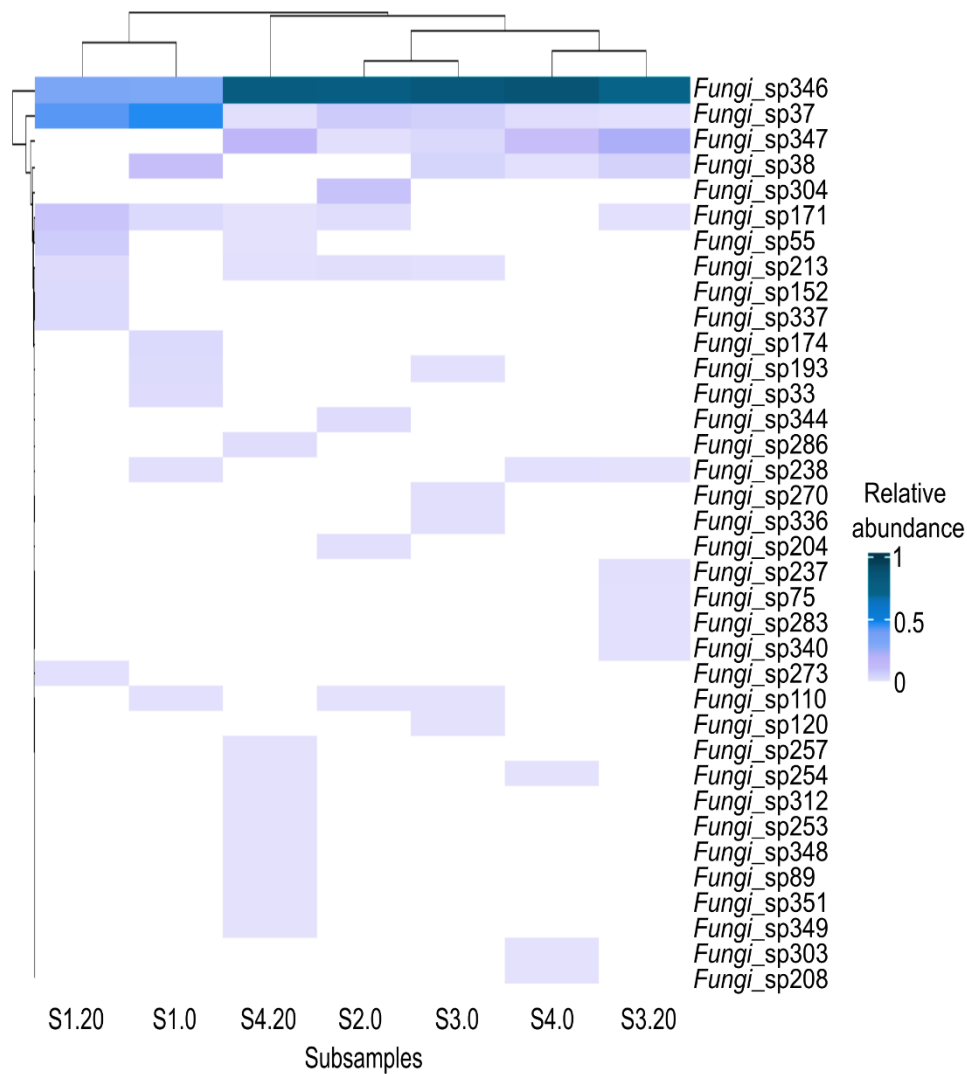


Figure 4. Clustered heatmap showing the relative abundance (white-navy blue coded lines) of fungi that were taxonomically assigned at the kingdom level as *Fungi* spp. (horizontal lines in each subsample) across subsamples. The color intensity is proportional to fungal relative abundance, with navy blue depicting higher values.

### *Alpha and beta diversity patterns*

Richness ranged from 51 (subsample S3.0) to 134 (subsample S4.20) ASVs. Shannon diversity index ranged from 1.47 (subsample S4.0) to 4.07 (subsample S1.20), and the evenness ranged from 0.35 (subsample S4.0) to 0.97 (subsample S1.20). Both Shannon index and evenness showed the highest values in nearshore stations and subsurface subsamples (Fig. 5).

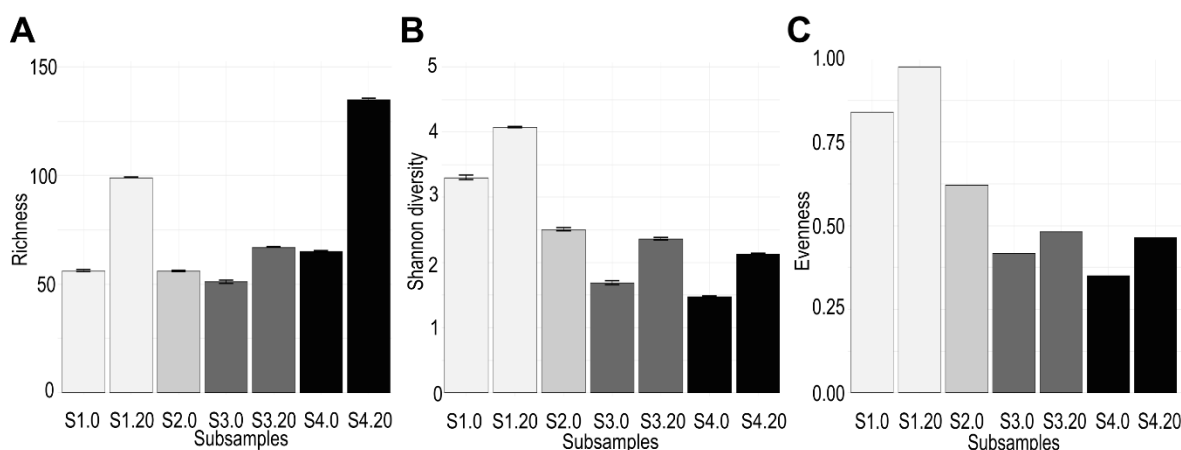


Figure 5. Alpha diversity estimates of fungal ASVs in the sediment subsamples, depicting the richness (A) of ASVs at the species level with error bars indicating standard deviation, Shannon index (B) with error bars indicating standard deviation, and evenness (C). The color intensity of each bar corresponds to its depth in the water column.

The Bray-Curtis dissimilarity showed a high variation among the subsamples (Fig. 6), with distances fluctuating between 0.40 (S2.0 and S3.0), and 0.98 (S1.0 and S4.20). The clustering patterns were detected in accordance with the distance from the coast (nearshore vs offshore). The Jaccard index showed community clustering based on presence-absence data, varying between 0.80 (in subsamples S2.0 and S3.0) and 0.92 (in subsamples S1.20 and S3.0). The clustering patterns were detected in accordance with the depth in sediment (0 cm vs 20 cm).

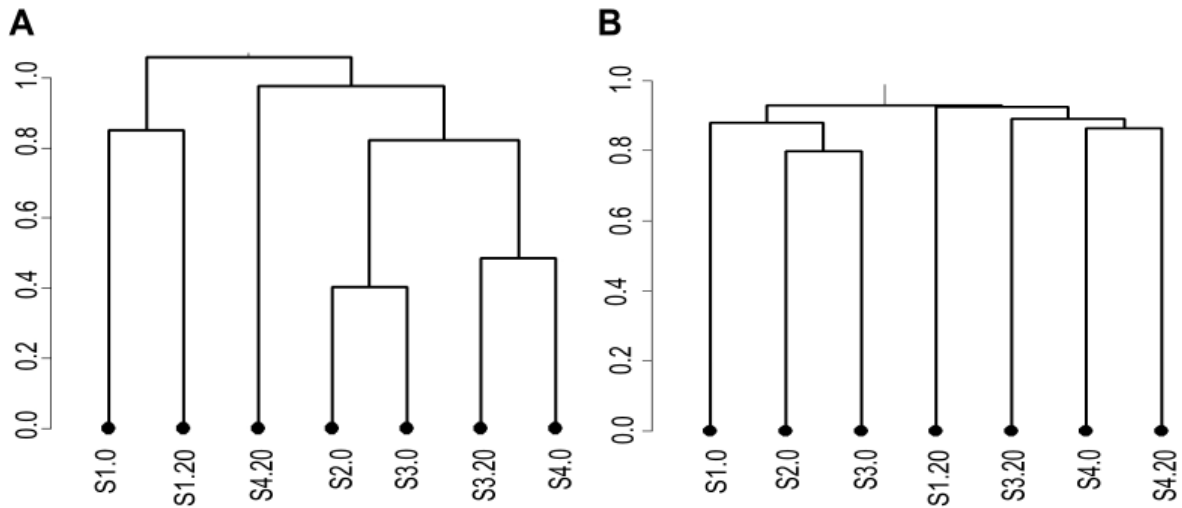


Figure 6. Dendrogram based on Bray-Curtis (A) and Jaccard (B) metrics indicating dissimilarities of fungal communities across sediment subsamples, where height (axis-y) indicates distance given the dissimilarity metrics.

According to the CCA, depth, DO and salinity variables in the bottom water explained 86.51% of the variance, with ASVs from the deeper surface subsamples (S4.0 and S3.0) showing a strong association with depth (Fig. 7). In addition, the CCA of the sediment variables named OC and pH showed weak inertia constrained by the explanatory variables with 64.32% of the variance. Here, the surface subsamples (especially the nearshore ones) were the least associated with these variables, and the ASVs from the deeper subsurface subsample S4.20 showed a weak association with OC.

Our results evidenced that only two ASVs (from a total of 353 at the species level) were shared among all subsamples, whilst most of the taxa (269 ASVs accounting for 76.20% of all of them) were unique at a single subsample. Venn diagram analysis revealed that barely 3 and 11 ASVs were shared between the surface and subsurface subsamples, respectively. Within the same station, amidst surface and subsurface sediments, only 11 ASVs were shared in S1, 16 ASVs in S3, and 24 ASVs in S4 (Fig. 8).



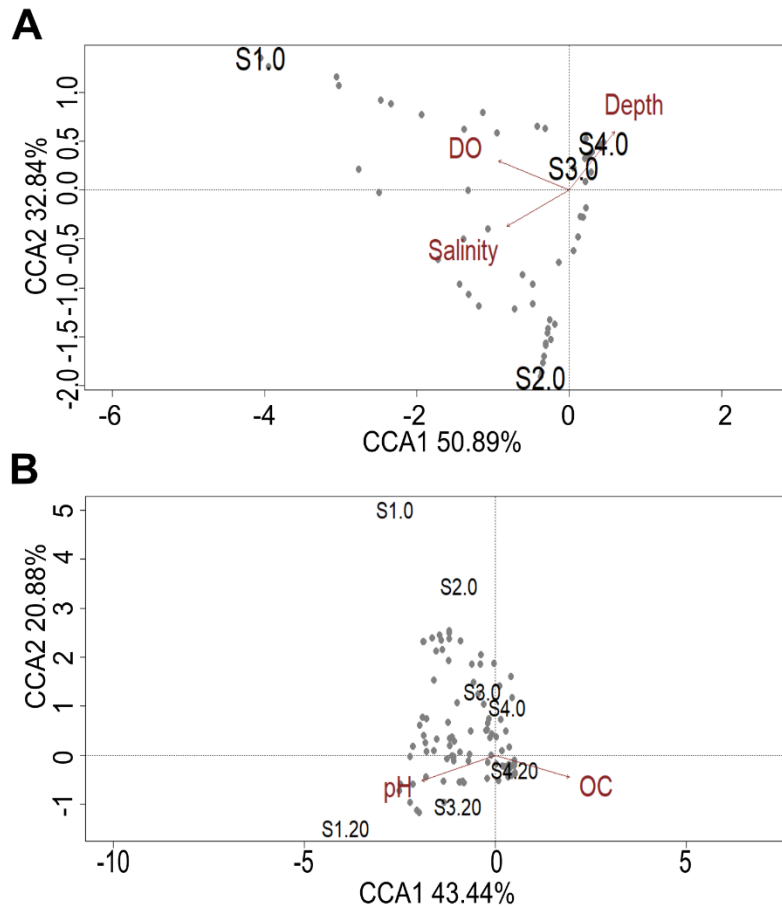


Figure 7. Canonical Correspondence ordination plots of fungal communities at the species level associated with the environmental parameters (OD: oxygen dissolved, OC: organic carbon) measured at the bottom of the water column (A) and in sediments (B) along the bathymetric transect. Environmental parameters are indicated in red, subsamples in black, and fungal ASVs as grey circles.

#### 4. Discussion

Even though the Pacific Ocean harbors the largest OMZ in the global ocean, its mycobiota remains poorly studied, presenting major knowledge gaps in the OMZ off Mexico. To the extent of our knowledge, this is the first effort analyzing fungal community composition and diversity in the sediments of the Mexican Pacific OMZ, reporting 353 ASVs and evidencing characteristic diversity patterns along a bathymetric transect and across two depths in the sediment. Notably, the magnitude of the diversity exceeded former figures based on the

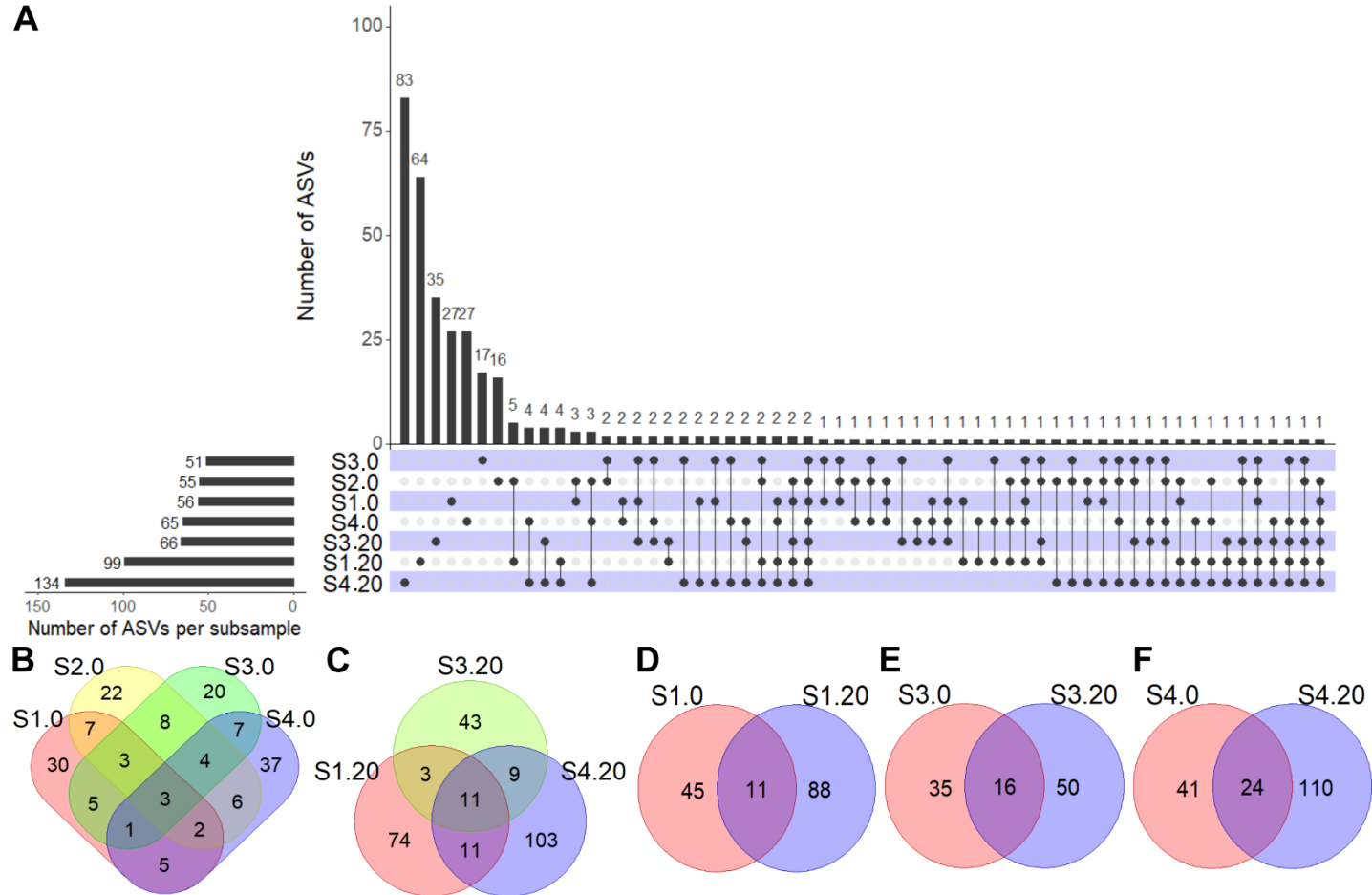


Figure 8. Upset plot representing unique and shared fungal ASVs across all subsamples stacked in the  $x$ -axis (**A**), where the number of ASVs per subsample represents the richness of each one. Dots below bars denote the occurrence of ASVs in an exclusive subsample, and lines indicate shared ASVs among subsamples. Furthermore, Venn diagrams independently showed the exclusive and shared ASVs among surface subsamples (**B**) subsurface subsamples (**C**), and between the different depths at each station (**D**).

analysis of the ITS region reported for the water column (237 ASVs in 11 samples; Peng & Valentine, 2021) and sediment samples (38 ASVs in two samples; Velez et al., 2022) of the OMZ of the eastern tropical North Pacific. Overall, our results evidence that OMZ off Mazatlán are a suitable niche for fungal proliferation that should be further explored in order to attain a complete picture of ecosystem functioning and identify key microbial players.

### ***Taxonomic diversity***

The dominance of *Ascomycota* and *Basidiomycota* in these OMZ samples (Fig. 3) resembles previous investigations in several marine environments including OMZs (Cathrine & Raghukumar, 2009; Jebaraj et al., 2010; Manohar et al., 2015; Manohar & Raghukumar, 2013; Mouton et al., 2012), deep-sea asphalt seeps (Nagano et al., 2017), deep-sea hadal sediments (Xu et al., 2019), deep-subseafloor sediments (Rédou et al., 2015), deep-sea benthic sediments (Rojas-Jimenez et al., 2020; Xu et al., 2014), hydrothermal vent sediments (Velez, Salcedo, et al., 2022), and along the water column (Li et al., 2019). In addition, we detected a minor proportion of *Rozellomycota* members that have been accounted as parasites of zoosporic fungi and *Oomycota* (Corsaro et al., 2014). *Rozellomycota* organisms have been reported in numerous marine regions such as coastlines (Li et al., 2016), deep-sea sediments (Xu et al., 2019), and oxygen-depleted marine ecosystems (Nagahama et al., 2011; Peng & Valentine, 2021; Takishita et al., 2007).

At the species level, our data evidenced the copious occurrence of unidentified, uncultured phylotypes (36 ASVs accounting for 69.01% of the overall reads; Fig. 4). Remarkably, *Fungi* sp. 346 and 347 (especially abundant in the deepest subsurface subsample S4.20) showed a 100% homology (query cover = 100) with the phylotype DSF-Group1 based on a BLAST search against the GenBank database (KT758162.1 and KT758149.1 respectively), suggesting their affiliation to this group. This uncultured phylotype has been regarded as a globally distributed deep-sea endemic fungal cluster, including those with oxygen-depleted conditions (Bass et al., 2007; Lai et al., 2007; Nagahama et al., 2011; Nagano et al., 2010; Takishita et al., 2007; Thaler et al., 2012; Xu et al., 2014). Then, the plethora of novel fungi recovered from the OMZ sediments in the Mexican Pacific indicate that this environment may harbor novel fungal. These might be due to the vast majority of fungal species remaining

unknown, and the ITS-reference database designed based on terrestrial representatives is greatly biased towards these *Basidiomycota* and *Ascomycota* (Amend, 2014). Using a polyphasic taxonomy that combines different approaches (i.e., cultivation-independent studies with cultivation-dependent studies) to assess both fungal taxonomic and functional diversity (Lücking et al., 2020) could minimize this bias and contribute to revealing the mycobiota in the studied region.

Members of the genus *Paraphaeosphaeria* were widely represented (8 ASVs, accounting for 31.30% of the relative abundance of all sequences) in these sediments, especially in the subsurface ones. These *Paraphaeosphaeria* sequences resemble those formerly reported in deep-sea sediments from the South China Sea (GenBank database accession KT758166.1, unpublished), an OMZ in the Gulf of California (Velez et al., 2022), and salt marsh grasses (Calabon et al., 2021). Ecological strategies of members of this genus in terrestrial environments are diverse, ranging from plant pathogens and saprobes to endophytes (Fukuhara, 2002; Shoemaker & Eriksson, 1967; Verkley et al., 2014). Thus, it is reasonable to hypothesize an ecological niche shift (*sensu* Selosse et al., 2018) in order to explain its possible adaptation to the extreme conditions of the OMZ sediments. However, this last requires testing their active roles, particularly of those *Paraphaeosphaeria* recovered from the deepest subsurface sediments.

*Malassezia*-like fungi occur across assorted marine habitats, including polar regions (Doytchinov & Dimov, 2022), OMZs (Jebaraj et al., 2010; Peng & Valentine, 2021), methane cold-seeps (Lai et al., 2007; Nagahama et al., 2011), the marine subsurface (Edgcomb et al., 2011; Orsi et al., 2021; Pachiadaki et al., 2016), deep-sea (Nagano & Nagahama, 2012; Rojas-Jimenez et al., 2020; Singh et al., 2012; Xu et al., 2014), and high-temperature hydrothermal vents (Velez et al., 2022). Also, these microorganisms have been reported infecting marine mammals (Nakagaki et al., 2000) and associated with marine sponges and invertebrates (Gao et al., 2008), being hypothesized as opportunistic pathogens of deep-sea marine invertebrates (Nagahama et al., 2011). In these samples, *M. restricta* showed a wide distribution, which agrees with the distribution of Pacific benthic fauna such as polychaetes

(e.g., *Sabellidae*, *Terebellidae*; (Salazar-Vallejo & Londoño-Mesa, 2004). So, possibly a host-parasite relationship could explain the wide distribution of *Malassezia* in our survey.

Fungi in marine environments play key roles in nutrient cycling (Gladfelter et al., 2019). Particularly, the participation of *Penicillium* (Jebaraj et al., 2010; Mouton et al., 2012; Peng & Valentine, 2021; Takasaki et al., 2004), and *Trichoderma* (Mouton et al., 2012) taxa in the marine nitrogen cycle has been related to the typical denitrification process of OMZ sediments (Cathrine & Raghukumar, 2009; Jebaraj et al., 2010; Mouton et al., 2012; Peng & Valentine, 2021; Xu et al., 2018). This could explain the high abundance of *Penicillium* and *Trichoderma* members in these subsamples. Moreover, *P. melinii* was the most abundant ASV within *Penicillium* genus in this study and it has been suggested as a putative denitrifier in the water column of the OMZ of the Eastern Tropical North Pacific (Peng & Valentine, 2021); perhaps it serves the same function in the underlying sediments off Mazatlán.

#### ***Diversity patterns along the bathymetric transect***

Even though the fungal community in the deepest subsurface subsample (S4.20) was the richest, the highest alpha diversity values were observed in the nearshore subsamples (S1.0 and S1.20; Fig. 5) as reported in a transect from the Mediterranean Sea (Barone et al., 2018). This pattern could be explained by evenness decreases towards the open ocean due to the dominance of *Fungi* sp. 346 and *Fungi* sp. 347. Surface subsamples distributed along the bathymetric transect showed high fungal community turnover, with barely three ASVs (including *Penicillium melinii*, *Fungi* sp. 346 and *Fungi* sp. 347) common among subsamples (Fig. 8). In terms of beta diversity, the highest dissimilarity values based on abundance were registered between the most coastal subsample (S1.0) and the deepest subsurface subsample (S4.20; Fig. 6), which indicate that dissimilarity is not only related to the spatial distance (~32 m) between these two localities (Table 1) but also related to the characteristics of each depth in the sediment.

Based on our results, dissolved oxygen only showed a slight association with fungal community composition from the S1.0 nearshore subsample, which may indicate the ability of the remaining mycobiota to adapt to environments with oxygen-depleted conditions,

perhaps via different respiration strategies. Additionally, the water column depth was associated with fungal community composition from S3.0 and S4.0 open-ocean subsamples (Fig. 7). This last distribution pattern agrees with that reported in the study on the global biogeography of marine fungi (Tisthammer et al., 2016) and the fungal communities along the Western Pacific Ocean (Li et al., 2019), since water column depth was a variable correlated with fungal community composition. This could be linked to distinct depth-related nutrient conditions; as input of allochthonous (e.g., from terrestrial and atmospheric sources) and autochthonous (e.g., upwelling of nutrient-rich water) organic matter is common in organic-rich nearshore areas, while is less frequent in the organic-poor oligotrophic open ocean, where only those organisms (such as fungi) able to take advantage of the remnant refractory organic matter deposits can thrive. Since the depth is inherently related to other variables such as hydrostatic pressure, temperature, and sedimentation rate of nutrients, we recommend considering the relationship between these environmental variables and fungal community structure in subsequent research.

#### ***Vertical diversity patterns in the sediment***

Overall, the subsurface subsamples had the highest alpha diversity values (Fig. 5). Dormant or dead propagules are possible in that subseafloor sediments (Burgaud et al., 2013; Jørgensen, 2011). Nonetheless, the detection of fungal DNA-repair transcripts in anoxic subsurface sediments in the Peru Margin has evidenced fungal cell-division transcripts that indicate actively dividing cells in deeply buried sediment (Edgcomb et al., 2011; Orsi, Biddle, et al., 2013). Thus, the herein described mycodiversity may represent a key element in biogeochemical cycles, considering its high abundance in deep-sea subsurface sediments (Edgcomb et al., 2011; Rédou et al., 2014), and accumulating evidence on fungal metabolic activity in subsurface sediments (Orsi et al., 2021; Pachiadaki et al., 2016). Regarding mycobiota in these subsurface subsamples: *Aspergillus sydowii*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Humicola* sp. have been formerly reported from subsurface samples (Cathrine & Raghukumar, 2009; Raghukumar et al., 2004; Rédou et al., 2015). Similar to surface sediments along the bathymetric transect, the subsurface sediments showed high fungal community turnover, as *Rousella solanni* was the only common ASV among these subsamples (Fig. 8). This fungus could be adapted to the depleted-oxygen conditions

of the OMZ of the Mexican Pacific; nonetheless, this assumption should be further tested in works that aim to understand fungal adaptation to anoxic subsurface sediments.

The sediment column constitutes an archive of past oceanic conditions that changes as the organic matter deposited over geological time increases (Burd et al., 2016). Our findings at the small-scale (same station sediments: 0 vs 20 cm) revealed a heterogeneous fungal community assemblage, as most ASVs did not occur at both depths in the sediment in the same station (Fig. 8). These compositional differences have also been reported in Margin and Trench of Peru (Edgcomb et al., 2011), Central Indian Basin (Singh et al., 2012), Canterbury Basin (Rédou et al., 2014), Eastern tropical Pacific (Rojas-Jimenez et al., 2020), and South China sea (Feng et al., 2021); and could largely suggest the differential occupation of vertical microniches in the sediment by fungi. Under this context, environmental filtering may also influence the establishment of some ASVs, as observed in bacteria (Starnawski et al., 2017; Walsh et al., 2016).

Broadly, it has been assumed that marine microbial abundance decreases with increasing depth and marine sediment age (Hoshino et al., 2020; Parkes et al., 1994). However, we detected higher fungal diversity and abundance at higher depths in sediment (Fig. 5) possibly due to the organic matter deposition at this small-scale. According to our results, the greater abundance of OC in these sediments with respect to surface subsamples might influenced fungal community composition (Fig. 7), which is consistent with previous research in the marine subsurface biosphere (Orsi, Edgcomb, et al., 2013; Pachiadaki et al., 2016), and benthic deep-sea environments (Barone et al., 2018).

## **5. Conclusions**

Our results evidenced high fungal diversity in the Mexican Pacific OMZ, with the *Ascomycota* and uncultured, unidentified phylotypes as dominant elements. The highest diversity levels were recorded not only in nearshore, but also in subsurface sediment subsamples, probably due to temporal fluctuations in the organic matter inputs since environmental variables measured showed a weak association with these fungal

communities. We suggest that *Fungi* sp. 346 and 347, *Paraphaeosphaeria angularis*, *Roussella solanni*, and *Pencillium melinii* found in sediments of the Mexican Pacific OMZ could be key microbial players in carbon and/or nitrogen cycles. We also highlight the potential importance of copious subsurface anoxic sediment fungi in benthic ecology that should be further investigated. Additionally, our results showed a high heterogeneity of the fungal composition at a small scale, which may suggest its dependence on the characteristics of each vertical microniche in the sediment. Hence, this work increases our understanding of fungal diversity in sediments of OMZ, providing baseline information for a better thoughtful of mycobiota across a bathymetric transect and at different sediment depths.

## 6. Acknowledgements

We thank the captain and crew of the oceanographic cruise “MazV” for technical assistance during the sampling, Lidia I. Cabrera Martínez for technical support during molecular work at the Laboratorio de Sistemática Molecular del Departamento de Botánica (Instituto de Biología, UNAM), as well as Susana Santiago Pérez and José Antonio Hernández Hernández, for the chemical analysis. JP is grateful for the master's scholarship Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT; No. 783293), the Manuscript Writing Training Team of CONACyT, and the Posgrado de Ciencias del Mar y Limnología, in which she opted for the master's degree by thesis. This research was supported by DGAPA-PAPIIT-UNAM IN200921 to PV, CONACyT CF-2019-2266 to SP. The ship time costs were funded by the UNAM.

## 7. References

- Amend. (2014). From dandruff to deep-sea vents: *Malassezia*-like fungi are ecologically hyperdiverse. *PLoS Pathogens*, 10(8). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004277>
- Barone, G., Rastelli, E., Corinaldesi, C., Tangherlini, M., Danovaro, R., & Dell’Anno, A. (2018). Benthic deep-sea fungi in submarine canyons of the Mediterranean Sea. *Progress in Oceanography*, 168(September), 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2018.09.011>
- Bass, D., Howe, A., Brown, N., Barton, H., Demidova, M., Michelle, H., Li, L., Sanders, H., Watkinson, S. C., Willcock, S., & Richards, T. A. (2007). Yeast forms dominate fungal diversity in the deep oceans. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1629), 3069–3077. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1067>



- Bertagnolli, A. D., & Stewart, F. J. (2018). Microbial niches in marine oxygen minimum zones. *Nature Reviews Microbiology*, 16(12), 723–729. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0087-z>
- Burd, A. B., Frey, S., Cabre, A., Ito, T., Levine, N. M., Lønborg, C., Long, M., Mauritz, M., Thomas, R. Q., Stephens, B. M., Vanwalleghem, T., & Zeng, N. (2016). Terrestrial and marine perspectives on modeling organic matter degradation pathways. *Global Change Biology*, 22(1), 121–136. <https://doi.org/10.1111/gcb.12987>
- Burgaud, G., Woehlke, S., Rédou, V., Orsi, W., Beaudoin, D., Barbier, G., Biddle, J. F., & Edgcomb, V. P. (2013). Deciphering the presence and activity of fungal communities in marine sediments using a model estuarine system. *Aquatic Microbial Ecology*, 70(1), 45–62. <https://doi.org/10.3354/ame01638>
- Calabon, M. S., Jones, E. B. G., Promputtha, I., & Hyde, K. D. (2021). Fungal biodiversity in salt marsh ecosystems. *Journal of Fungi*, 7(8). <https://doi.org/10.3390/jof7080648>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 4–5. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Cathrine, S. J., & Raghukumar, C. (2009). Anaerobic denitrification in fungi from the coastal marine sediments off Goa, India. *Mycological Research*, 113(1), 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.08.009>
- Ciobanu, M. C., Burgaud, G., Dufresne, A., Breuker, A., Rédou, V., ben Maamar, S., Gaboyer, F., Vandenabeele-Trambouze, O., Lipp, J. S., Schippers, A., Vandenkoornhuysse, P., Barbier, G., Jebbar, M., Godfroy, A., & Alain, K. (2014). Microorganisms persist at record depths in the seafloor of the Canterbury Basin. *ISME Journal*, 8(7), 1370–1380. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.250>
- Conway, J. R., Lex, A., & Gehlenborg, N. (2017). UpSetR: An R package for the visualization of intersecting sets and their properties. *Bioinformatics*, 33(18), 2938–2940. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx364>
- Corsaro, D., Walochnik, J., Venditti, D., Steinmann, J., Müller, K. D., & Michel, R. (2014). *Microsporidia*-like parasites of amoebae belong to the early fungal lineage *Rozellomycota*. *Parasitology Research*, 113(5), 1909–1918. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3838-4>
- Deutsch, C., Brix, H., Ito, T., Frenzel, H., & Thompson, L. (2011). Climate-forced variability of ocean hypoxia. *Science*, 333(6040), 336–339. <https://doi.org/10.1126/science.1202422>
- DeVries, T., Deutsch, C., Primeau, F., Chang, B., & Devol, A. (2012). Global rates of water-column denitrification derived from nitrogen gas measurements. *Nature Geoscience*, 5(8), 547–550. <https://doi.org/10.1038/ngeo1515>
- Doytchinov, V. v., & Dimov, S. G. (2022). Microbial community composition of the Antarctic ecosystems: Review of the bacteria, fungi, and archaea identified through an NGS-based metagenomics approach. *Life*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/life12060916>
- Edgcomb, V. P., Beaudoin, D., Gast, R., Biddle, J. F., & Teske, A. (2011). Marine subsurface eukaryotes: The fungal majority. *Environmental Microbiology*, 13(1), 172–183. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02318.x>

- Feng, L., Song, Q., Jiang, Q., & Li, Z. (2021). The horizontal and vertical distribution of deep-sea sediments fungal community in the South China Sea. *Frontiers in Marine Science*, 8, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.592784>
- Fu, L., Niu, B., Zhu, Z., Wu, S., & Li, W. (2012). CD-HIT: Accelerated for clustering the next-generation sequencing data. *Bioinformatics*, 28(23), 3150–3152. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts565>
- Fukuhara, M. (2002). Three *Phaeosphaeria* species and *Paraphaeosphaeria michotii* isolated from *Phragmites* leaves in Osaka, Japan. *Mycoscience*, 43(5), 375–382. <https://doi.org/10.1007/s102670200055>
- Gao, Z., Li, B., Zheng, C., & Wang, G. (2008). Molecular detection of fungal communities in the hawaiian marine sponges *Suberites zeteki* and *Mycale armata*. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(19), 6091–6101. <https://doi.org/10.1128/AEM.01315-08>
- Gardes, M., & Bruns, T. D. (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 2(2), 113–118. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x>
- Gladfelter, A. S., James, T. Y., & Amend, A. S. (2019). Marine fungi. *Current Biology*, 29(6), R191–R195. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.02.009>
- Gu, Z., & Hübschmann, D. (2022). Make interactive Complex Heatmaps in R. *Bioinformatics*, 38(5), 1460–1462. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btab806>
- Gutiérrez, M. H., Pantoja, S., Quiñones, R. A., & González, R. R. (2010). First record of filamentous fungi in the coastal upwelling ecosystem off central Chile. *Gayana*, 74(1), 66–73. <https://doi.org/10.4067/S0717-65382010000100010>
- Helly, J. J., & Levin, L. A. (2004). Global distribution of naturally occurring marine hypoxia on continental margins. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 51(9), 1159–1168. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2004.03.009>
- Horak, R. E. A., Ruef, W., Ward, B. B., & Devol, A. H. (2016). Expansion of denitrification and anoxia in the eastern tropical North Pacific from 1972 to 2012. *Geophysical Research Letters*, 43(10), 5252–5260. <https://doi.org/10.1002/2016GL068871>
- Hoshino, T., Doi, H., Uramoto, G. I., Wörmer, L., Adhikari, R. R., Xiao, N., Morono, Y., D'Hondt, S., Hinrichs, K. U., & Inagaki, F. (2020). Global diversity of microbial communities in marine sediment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(44), 27587–27597. <https://doi.org/10.1073/pnas.1919139117>
- Hsieh, T. C., Ma, K. H., & Chao, A. (2020). Package “iNEXT.” <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12613>>.License
- Jebaraj, C., Forster, D., Kauff, F., & Stoeck, T. (2012). Molecular diversity of fungi from marine oxygen-deficient environments (ODEs). In *Biology of marine fungi* (Vol. 53, pp. 189–208). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-23342-5\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-23342-5_10)
- Jebaraj, Raghukumar, C., Behnke, A., & Stoeck, T. (2010). Fungal diversity in oxygen-depleted regions of the Arabian Sea revealed by targeted environmental sequencing combined with cultivation. *FEMS Microbiology Ecology*, 71(3), 399–412. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00804.x>

- Jørgensen, B. B. (2011). Deep seafloor microbial cells on physiological standby. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(45), 18193–18194. <https://doi.org/10.1073/pnas.1115421108>
- Karstensen, J., Stramma, L., & Visbeck, M. (2008). Oxygen minimum zones in the eastern tropical Atlantic and Pacific oceans. *Progress in Oceanography*, 77(4), 331–350. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2007.05.009>
- Lai, X., Cao, L., Tan, H., Fang, S., Huang, Y., & Zhou, S. (2007). Fungal communities from methane hydrate-bearing deep-sea marine sediments in South China Sea. *ISME Journal*, 1(8), 756–762. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.51>
- Levin. (2018). Manifestation, drivers, and emergence of open ocean deoxygenation. *Annual Review of Marine Science*, 10, 229–260. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-121916-063359>
- Li, W., Wang, M., Burgaud, G., Yu, H., & Cai, L. (2019). Fungal community composition and potential depth-related driving factors impacting distribution pattern and trophic modes from epi- to abyssopelagic zones of the Western Pacific Ocean. *Microbial Ecology*, 78(4), 820–831. <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01374-y>
- Li, W., Wang, M. M., Wang, X. G., Cheng, X. L., Guo, J. J., Bian, X. M., & Cai, L. (2016). Fungal communities in sediments of subtropical Chinese seas as estimated by DNA metabarcoding. *Scientific Reports*, 6, 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep26528>
- Long, A. M., Jurgensen, S. K., Petchel, A. R., Savoie, E. R., & Brum, J. R. (2021). Microbial ecology of oxygen minimum zones amidst ocean deoxygenation. *Frontiers in Microbiology*, 12(October), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.748961>
- Loring, D. H., & Rantala, R. T. T. (1992). Manual for the geochemical analyses of marine sediments and suspended particulate matter. *Earth Science Reviews*, 32(4), 235–283. [https://doi.org/10.1016/0012-8252\(92\)90001-A](https://doi.org/10.1016/0012-8252(92)90001-A)
- Lücking, R., Aime, M. C., Robbertse, B., Miller, A. N., Ariyawansa, H. A., Aoki, T., Cardinali, G., Crous, P. W., Druzhinina, I. S., Geiser, D. M., Hawksworth, D. L., Hyde, K. D., Irinyi, L., Jeewon, R., Johnston, P. R., Kirk, P. M., Malosso, E., May, T. W., Meyer, W., ... Schoch, C. L. (2020). Unambiguous identification of fungi: Where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding? *IMA Fungus*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s43008-020-00033-z>
- Manohar, C. S., Boekhout, T., Müller, W. H., & Stoeck, T. (2014). *Tritirachium candoliense* sp. nov., a novel basidiomycetous fungus isolated from the anoxic zone of the Arabian Sea. *Fungal Biology*, 118(2), 139–149. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.10.010>
- Manohar, C. S., Menezes, L. D., Ramasamy, K. P., & Meena, R. M. (2015). Phylogenetic analyses and nitrate-reducing activity of fungal cultures isolated from the permanent, oceanic oxygen minimum zone of the Arabian sea. *Canadian Journal of Microbiology*, 61(3), 217–226. <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0507>
- Manohar, C. S., & Raghukumar, C. (2013). Fungal diversity from various marine habitats deduced through culture-independent studies. *FEMS Microbiology Letters*, 341(2), 69–78. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12087>

- Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.Journal* 17.1, Technical Notes, 10–12. <http://www-huber.embl.de/users/andreas>
- Møller, T. E., le Moine Bauer, S., Hannisdal, B., Zhao, R., Baumberger, T., Roerdink, D. L., Dupuis, A., Thorseth, I. H., Pedersen, R. B., & Jørgensen, S. L. (2022). Mapping microbial abundance and prevalence to changing oxygen concentration in deep-sea sediments using machine learning and differential abundance. *Frontiers in Microbiology*, 13(May). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.804575>
- Mouton, M., Postma, F., Wilsenach, J., & Botha, A. (2012). Diversity and characterization of culturable fungi from marine sediment collected from St. Helena Bay, South Africa. *Microbial Ecology*, 64(2), 311–319. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0035-9>
- Murali, A., Bhargava, A., & Wright, E. S. (2018). IDTAXA: A novel approach for accurate taxonomic classification of microbiome sequences. *Microbiome*, 6(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0521-5>
- Nagahama, T., Takahashi, E., Nagano, Y., Abdel-Wahab, M. A., & Miyazaki, M. (2011). Molecular evidence that deep-branching fungi are major fungal components in deep-sea methane cold-seep sediments. *Environmental Microbiology*, 13(8), 2359–2370. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02507.x>
- Nagano, Y., Miura, T., Nishi, S., Lima, A. O., Nakayama, C., Pellizari, V. H., & Fujikura, K. (2017). Fungal diversity in deep-sea sediments associated with asphalt seeps at the Sao Paulo Plateau. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 146(May), 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2017.05.012>
- Nagano, Y., & Nagahama, T. (2012). Fungal diversity in deep-sea extreme environments. *Fungal Ecology*, 5(4), 463–471. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2012.01.004>
- Nagano, Y., Nagahama, T., Hatada, Y., Nunoura, T., Takami, H., Miyazaki, J., Takai, K., & Horikoshi, K. (2010). Fungal diversity in deep-sea sediments - the presence of novel fungal groups. *Fungal Ecology*, 3(4), 316–325. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2010.01.002>
- Nakagaki, K., Hata, K., Iwata, E., & Takeo, K. (2000). *Malassezia pachydermatis* isolated from a south American sea lion (*Otaria byronia*) with dermatitis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 62(8), 901–903. <https://doi.org/10.1292/jvms.62.901>
- Nilsson, R., Larsson, K.-H., Taylor, A. F. S., Bengtsson-Palme, J., Jeppesen, T. S., Schigel, D., Kennedy, P., Picard, K., Glöckner, F. O., Tedersoo, L., Saar, I., Kõljalg, U., & Abarenkov, K. (2019). The UNITE database for molecular identification of fungi: Handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D259–D264. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1022>
- Oksanen, A. J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., Mcglinn, D., Minchin, P. R., Hara, R. B. O., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., & Szoecs, E. (2020). vegan: Community Ecology Package. 298. <https://cran.r-project.org/package=vegan>
- Orsi, Biddle, J. F., & Edgcomb, V. (2013). Deep sequencing of subseafloor eukaryotic rRNA reveals active fungi across marine subsurface provinces. *PLoS ONE*, 8(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056335>

- Orsi, Edgcomb, V. P., Christman, G. D., & Biddle, J. F. (2013). Gene expression in the deep biosphere. *Nature*, 499(7457), 205–208. <https://doi.org/10.1038/nature12230>
- Orsi, Vuillemin, A., Coskun, Ö. K., Rodriguez, P., Oertel, Y., Niggemann, J., Mohrholz, V., & Gomez-Saez, G. v. (2021). Carbon assimilating fungi from surface ocean to seafloor revealed by coupled phylogenetic and stable isotope analysis. *ISME Journal*, November, 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01169-5>
- Pachiadaki, M. G., Rédou, V., Beaudoin, D. J., Burgaud, G., & Edgcomb, V. P. (2016). Fungal and prokaryotic activities in the marine subsurface biosphere at Peru Margin and Canterbury Basin inferred from RNA-based analyses and microscopy. *Frontiers in Microbiology*, 7(JUN), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00846>
- Papiol, V., Hendrickx, M. E., & Serrano, D. (2017). Effects of latitudinal changes in the oxygen minimum zone of the northeast Pacific on the distribution of bathyal benthic decapod crustaceans. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 137, 113–130. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2016.04.023>
- Parkes, R. J., Cragg, B. A., Bale, S. J., Goodman, K., Rochelle, Paul. A., Getliff, J. M., Fry, J. C., Weightman, A. J., & Harvey, S. M. (1994). Deep bacterial biosphere in Pacific Ocean sediments. In *Nature* (Vol. 371, Issue 29 September, pp. 410–413).
- 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>
- Peng, X., & Valentine, D. L. (2021). Diversity and N<sub>2</sub>O production potential of fungi in an oceanic oxygen minimum zone. *Journal of Fungi*, 7(3). <https://doi.org/10.3390/jof7030218>
- R Core Team. (2021). R: A language and environment for statistical computing. <https://www.R-project.org/>
- Raghukumar, C., Raghukumar, S., Sheelu, G., Gupta, S. M., Nagender Nath, B., & Rao, B. R. (2004). Buried in time: Culturable fungi in a deep-sea sediment core from the Chagos Trench, Indian Ocean. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 51(11), 1759–1768. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2004.08.002>
- Rédou, V., Ciobanu, M. C., Pachiadaki, M. G., Edgcomb, V., Alain, K., Barbier, G., & Burgaud, G. (2014). In-depth analyses of deep subsurface sediments using 454-pyrosequencing reveals a reservoir of buried fungal communities at record-breaking depths. *FEMS Microbiology Ecology*, 90(3), 908–921. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12447>
- Rédou, V., Navarri, M., Meslet-Cladière, L., Barbier, G., & Burgaud, G. (2015). Species richness and adaptation of marine fungi from deep-subseafloor sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(10), 3571–3583. <https://doi.org/10.1128/AEM.04064-14>
- Rojas-Jimenez, K., Grossart, H. P., Cordes, E., & Cortés, J. (2020). Fungal communities in sediments along a depth gradient in the Eastern Tropical Pacific. *Frontiers in Microbiology*, 11(November), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.575207>
- Salazar-Vallejo, S. I., & Londoño-Mesa, M. H. (2004). Lista de especies y bibliografía de poliquetos (*Polychaeta*) del Pacífico Oriental Tropical. *Anales Del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología*, 75(1), 9–97.

- Selosse, M. A., Schneider-Maunoury, L., & Martos, F. (2018). Time to re-think fungal ecology? Fungal ecological niches are often prejudged. *New Phytologist*, 217(3), 968–972. <https://doi.org/10.1111/nph.14983>
- Shoemaker, R. A., & Eriksson, O. (1967). *Paraphaeosphaeria michotii*. *Canadian Journal of Botany*, 45(604).
- Singh, P., Raghukumar, C., Meena, R. M., Verma, P., & Shouche, Y. (2012). Fungal diversity in deep-sea sediments revealed by culture-dependent and culture-independent approaches. *Fungal Ecology*, 5(5), 543–553. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2012.01.001>
- Starnawski, P., Bataillon, T., Ettema, T. J. G., Jochum, L. M., Schreiber, L., Chen, X., Lever, M. A., Polz, M. F., Jørgensen, B. B., Schramm, A., & Kjeldsen, K. U. (2017). Microbial community assembly and evolution in subseafloor sediment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(11), 2940–2945. <https://doi.org/10.1073/pnas.1614190114>
- Stief, P., Fuchs-Ocklenburg, S., Kamp, A., Manohar, C. S., Houbraken, J., Boekhout, T., de Beer, D., & Stoeck, T. (2014). Dissimilatory nitrate reduction by *Aspergillus terreus* isolated from the seasonal oxygen minimum zone in the Arabian Sea. *BMC Microbiology*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-35>
- Sumathi, J. C., & Raghukumar, C. (2009). Anaerobic denitrification in fungi from the coastal marine sediments off Goa, India. *Mycological Research*, 113(1), 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.08.009>
- Takasaki, K., Shoun, H., Nakamura, A., Hoshino, T., & Takaya, N. (2004). Unusual transcription regulation of the *niaD* gene under anaerobic conditions supporting fungal ammonia fermentation. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68(4), 978–980. <https://doi.org/10.1271/bbb.68.978>
- Takishita, K., Yubuki, N., Kakizoe, N., Inagaki, Y., & Maruyama, T. (2007). Diversity of microbial eukaryotes in sediment at a deep-sea methane cold seep: Surveys of ribosomal DNA libraries from raw sediment samples and two enrichment cultures. *Extremophiles*, 11(4), 563–576. <https://doi.org/10.1007/s00792-007-0068-z>
- Thaler, A. D., van Dover, C. L., & Vilgalys, R. (2012). Ascomycete phylotypes recovered from a Gulf of Mexico methane seep are identical to an uncultured deep-sea fungal clade from the Pacific. *Fungal Ecology*, 5(2), 270–273. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2011.07.002>
- Tiano, L., Garcia-Robledo, E., Dalsgaard, T., Devol, A. H., Ward, B. B., Ulloa, O., Canfield, D. E., & Peter Revsbech, N. (2014). Oxygen distribution and aerobic respiration in the north and southeastern tropical Pacific oxygen minimum zones. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 94, 173–183. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2014.10.001>
- Tisthammer, K. H., Cobian, G. M., & Amend, A. S. (2016). Global biogeography of marine fungi is shaped by the environment. *Fungal Ecology*, 19, 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.09.003>
- Ulloa, O., & Pantoja, S. (2009). The oxygen minimum zone of the eastern South Pacific. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 56(16), 987–991. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2008.12.004>

- Velez, P., Salcedo, D. L., Espinosa-Asuar, L., Gasca-Pineda, J., Hernandez-Monroy, A., & Soto, L. A. (2022). Fungal diversity in sediments from deep-sea extreme ecosystems: insights into low- and high-temperature hydrothermal vents, and an oxygen minimum zone in the southern Gulf of California, Mexico. *Frontiers in Marine Science*, 9(February), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.802634>
- Verkley, G. J. M., Dukik, K., Renfurm, R., Göker, M., & Stielow, J. B. (2014). Novel genera and species of *coniothyrium*-like fungi in *Montagnulaceae* (Ascomycota). *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 32, 25–51. <https://doi.org/10.3767/003158514X679191>
- Walsh, E. A., Kirkpatrick, J. B., Rutherford, S. D., Smith, D. C., Sogin, M., & D'Hondt, S. (2016). Bacterial diversity and community composition from seasurface to seafloor. *ISME Journal*, 10(4), 979–989. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.175>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics forensic DNA technology view project hydraulic lift and common mycorrhizal networks view project. In Innis M, Gelfand J, Sninsky J, & White T (Eds.), *PCR Protocols: A guide to methods and applications* (pp. 315–322). Academic Press, Inc. <https://www.researchgate.net/publication/262687766>
- Wickham, H. (2016). ggplot2 elegant graphics for data analysis. In *Media* (Second edi, Vol. 35, Issue July). <http://had.co.nz/ggplot2/book>
- Wright, E. S. (2016). Using DECIPHER v2.0 to analyze big biological sequence data in R. *The R Journal*, 8, 352–359.
- Wu, B., Hussain, M., Zhang, W., Stadler, M., Liu, X., & Xiang, M. (2019). Current insights into fungal species diversity and perspective on naming the environmental DNA sequences of fungi. In *Mycology* (Vol. 10, Issue 3, pp. 127–140). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/21501203.2019.1614106>
- Xu, W., Gao, Y. hao, Gong, L. feng, Li, M., Pang, K. L., & Luo, Z. H. (2019). Fungal diversity in the deep-sea hadal sediments of the Yap Trench by cultivation and high throughput sequencing methods based on ITS rRNA gene. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 145(June 2018), 125–136. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2019.02.001>
- Xu, W., Gong, L. feng, Pang, K. L., & Luo, Z. H. (2018). Fungal diversity in deep-sea sediments of a hydrothermal vent system in the Southwest Indian Ridge. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 131(November 2017), 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2017.11.001>
- Xu, W., Pang, K. L., & Luo, Z. H. (2014). High fungal diversity and abundance recovered in the deep-sea sediments of the Pacific Ocean. *Microbial Ecology*, 68(4), 688–698. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0448-8>
- Zhang, X. Y., Wang, G. H., Xu, X. Y., Nong, X. H., Wang, J., Amin, M., & Qi, S. H. (2016). Exploring fungal diversity in deep-sea sediments from Okinawa Trough using high-throughput Illumina sequencing. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 116, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2016.08.004>

## 8. Discusión general

A pesar de que la ZMO del Océano Pacífico es la más extensa en el océano global, el conocimiento de la microbiota frente a Mazatlán permanece inexplorada. Esta investigación representa un esfuerzo pionero para documentar la diversidad de las comunidades fúngicas en los sedimentos de la ZMO de la costa de Mazatlán. Como resultado de este estudio, se obtuvieron 353 ASVs y patrones de diversidad característicos tanto a lo largo de un transecto batimétrico, como a dos profundidades en el sedimento. La diversidad obtenida fue superior a las cifras previamente registradas para las muestras de columna de agua (237 ASVs; Peng & Valentine, 2021) y de sedimento (102 ASVs; Velez et al., 2022) de la ZMO del Pacífico Tropical Oriental. En este sentido, nuestros resultados evidenciaron que la ZMO del Pacífico mexicano es un nicho adecuado para la proliferación fúngica que debe explorarse más para identificar a los organismos microbianos clave y comprender el funcionamiento del ecosistema.

Los miembros de *Ascomycota* y *Basidiomycota* dominaron en todas las submuestras (Fig. 3) tal como se ha registrado en investigaciones previas de varios ambientes marinos (Jebaraj et al., 2010; Li et al., 2019; Rédou et al., 2014; Rojas-Jimenez et al., 2020; Xu et al., 2019). Por su parte, *Rozellomycota* mostró una mínima proporción de representantes y una distribución limitada a las submuestras S1.0 y S3.20. Los miembros de este phylum han sido registrados en diferentes regiones marinas (Li et al., 2016; Nagahama et al., 2011; Peng & Valentine, 2021; Xu et al., 2019) y han sido reconocidos como parásitos de hongos zoospóricos y de *Oomycota* (Corsaro et al., 2014).

A nivel de especie, nuestros datos evidenciaron una copiosa abundancia de filotipos no identificados (*Fungi* spp.) en la base de datos taxonómica UNITE (36 ASVs que representaron el 69.01 % de las lecturas totales; Fig. 4). Particularmente, los *Fungi* sp. 346 y 347 mostraron afiliación (100% de homología) con el filotipo *DSF-Group1* de acuerdo con una búsqueda BLAST comparada contra la base de datos GenBank (KT758162.1 y KT758149.1 respectivamente). Este filotipo no cultivado ha sido considerado como un grupo de hongos endémicos de aguas profundas distribuido globalmente, y probablemente, también



es un grupo adaptado a ambientes con escasez de O<sub>2</sub> dada su elevada abundancia en los sedimentos subsuperficiales y su frecuente presencia en ambientes deficientes de O<sub>2</sub> (Bass et al., 2007; Lai et al., 2007; Nagahama et al., 2011; Nagano et al., 2010; Takishita et al., 2007; Thaler et al., 2012; Xu et al., 2014). La plétora de filotipos no identificados en este estudio indica que los sedimentos de la ZMO del Pacífico mexicano pueden albergar taxones fúngicos nuevos. El uso de una taxonomía polifásica que combine diferentes enfoques para evaluar la diversidad taxonómica y funcional de hongos (Lücking et al., 2020) podría contribuir al conocimiento de esta micobiota.

El género *Paraphaeosphaeria* destacó por su elevada abundancia (8 ASVs que representaron el 31.30% de la abundancia relativa de las secuencias identificadas), especialmente en los sedimentos subsuperficiales. Las estrategias ecológicas registradas para este género comprenden desde patógenos y saprobios hasta endófitos de plantas, por lo que plantear la hipótesis de un cambio en su función ecológica (*sensu* Selosse et al., 2018) resulta razonable, pues podría explicar su abundancia y posible adaptación a las condiciones extremas de los sedimentos de la ZMO estudiada.

Los hongos similares a *Malassezia* se encontraron en casi todas las submuestras (exceptuando la submuestra S1.0). Se ha registrado que los miembros de este género pueden infectar a mamíferos marinos (Nakagaki et al., 2000) y funcionar como patógenos oportunistas de invertebrados de aguas profundas (Gao et al., 2008; Nagahama et al., 2011). En nuestras muestras, la amplia distribución de *M. restricta* concuerda con la distribución de invertebrados de fauna bentónica como los poliquetos (e.g., *Sabellidae*, *Terebellidae*; Salazar-Vallejo & Londoño-Mesa, 2004) del Pacífico. Esto sugiere una relación huésped-parásito que puede influir en la estructura de la comunidad de *Malassezia* en la ZMO estudiada.

Se sabe que los hongos en ambientes marinos juegan un papel clave en los ciclos biogeoquímicos (Gladfelter et al., 2019). En particular, los taxones *Penicillium* y *Trichoderma* que tuvieron una elevada riqueza en la ZMO estudiada, han demostrado estar relacionados con el proceso de desnitrificación (Cathrine & Raghukumar, 2009; Jebaraj et

al., 2010; Mouton et al., 2012; Peng & Valentine, 2021; Xu et al., 2018). De hecho, *P. melinii*, propuesto como desnitrificante en la columna de agua de la ZMO del Pacífico Norte (Peng & Valentine, 2021), fue el ASV más abundante dentro del género *Penicillium* y uno de los tres ASVs comunes entre todos los sedimentos superficiales. Por lo anterior, es probable que la función de desnitrificación de *P. melinii* enunciada para la columna de agua coincida con su función en los sedimentos de la ZMO.

Respecto a la diversidad a lo largo del transecto batimétrico, a pesar de que la submuestra subsuperficial más profunda (S4.20) fue la de mayor riqueza, los valores de diversidad alfa más altos se observaron en las submuestras cercanas a la costa (S1.0 y S1.20; Fig. 5). Este patrón podría explicarse por la disminución de la equitatividad hacia el océano abierto debido a la dominancia de *Fungi* sp. 346 y 347. Adicionalmente, las submuestras superficiales a lo largo del transecto mostraron un alto recambio en la composición de las comunidades fúngicas con apenas tres ASVs (incluyendo *Penicillium melinii*, *Fungi* sp. 346 y *Fungi* sp. 347) comunes entre las submuestras (Fig. 8). En términos de diversidad beta, los valores más altos de disimilitud en función de la abundancia se registraron entre la submuestra más costera (S1.0) y la submuestra más profunda del subsuelo (S4.20; Fig. 6), lo que indica que la disimilitud no solo está relacionada con la distancia espacial (~32 m) entre estas dos localidades (Tabla 1) sino también con las características del sedimento en cada profundidad.

En relación con las variables ambientales, el O<sub>2</sub> disuelto solo mostró una ligera asociación con la comunidad fúngica de la submuestra cercana a la costa (S1.0), lo que sugiere la capacidad de la microbiota restante para adaptarse a entornos con condiciones de escasez de O<sub>2</sub> a través de diferentes estrategias de respiración. Por su parte, la profundidad en la columna de agua se asoció con la comunidad fúngica de las submuestras de mar abierto (S3.0 y S4.0; Fig. 7), lo cual podría estar relacionado con las distintas condiciones de nutrientes en función de la profundidad del agua.

En cuanto a la diversidad vertical en el sedimento, las muestras subsuperficiales tuvieron valores de diversidad alfa más altos que las muestras superficiales (Fig. 5). En este sentido, la micodiversidad subsuperficial podría estar desempeñando funciones ecológicas cruciales

para los ciclos biogeoquímicos de la biosfera profunda, lo cual complementa trabajos previos que han investigado su actividad metabólica (Edgcomb et al., 2011; Orsi et al., 2021; Pachiadaki et al., 2016; Rédou et al., 2014). Entre la microbiota identificada: *Aspergillus sydowii*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Humicola* sp. han sido registrados anteriormente en sedimentos subsuperficiales (Cathrine & Raghukumar, 2009; Raghukumar et al., 2004; Rédou et al., 2015). De manera similar a los sedimentos superficiales, los subsuperficiales mostraron un alto recambio en la composición de la comunidad, siendo *Rousella solanni* el único ASV común entre estas submuestras (Fig. 8). Este hongo podría estar adaptado a las condiciones del sedimento subsuperficial; no obstante, esto debe comprobarse en futuros trabajos.

Adicionalmente, nuestros hallazgos a pequeña escala (sedimentos de la misma estación: 0 vs 20 cm) revelaron un conjunto heterogéneo de comunidades fúngicas, ya que la mayoría de los ASVs no ocurrieron en ambas profundidades del sedimento de la misma estación (Fig. 8). Esta diferencia en la distribución vertical fúngica también ha sido observada en otros ecosistemas marinos (Edgcomb et al., 2011; Feng et al., 2021; Rédou et al., 2014; Rojas-Jimenez et al., 2020; Singh et al., 2012), sugiriendo la ocupación diferencial de micronichos verticales en el sedimento por hongos. En este contexto, el filtrado ambiental observado en las bacterias (Starnawski et al., 2017; Walsh et al., 2016) puede influir en el establecimiento de algunos ASVs fúngicos.

La columna de sedimentos del fondo marino cambia a medida que se deposita la materia orgánica a través del tiempo (Burd et al., 2016). Generalmente, se ha propuesto que la abundancia de microbios marinos disminuye con el aumento de la profundidad y la edad de los sedimentos marinos (Hoshino et al., 2020; Parkes et al., 1994). Sin embargo, en nuestros resultados detectamos mayor diversidad fúngica a mayor profundidad en los sedimentos (Fig. 5). Este patrón de diversidad puede deberse al mayor porcentaje de carbono orgánico en los sedimentos subsuperficiales (Fig. 7), lo cual es consistente con investigaciones previas (Barone et al., 2022; Orsi, Biddle, et al., 2013; Pachiadaki et al., 2016).

## 9. Conclusiones

- Nuestros resultados evidenciaron una alta diversidad fúngica en la ZMO del Pacífico central mexicano, siendo *Fungi* spp. (filotipos no identificados y no cultivados) y *Ascomycota* las taxas dominantes, seguidos por *Basidiomycota* y *Rozellomycota*.
- La diversidad fúngica obtenida provee información de línea base para estudiar su posible influencia en la estructura de la comunidad bentónica mediante interacciones biológicas como la de huésped-parásito.
- La baja proporción de ASVs fúngicos compartidos entre las submuestras, evidenció una alta heterogeneidad espacial en la composición de las comunidades fúngicas, inclusive a pequeña escala (entre las submuestras superficiales y subsuperficiales).
- En el transecto batimétrico, únicamente la diversidad fúngica de la estación costera mostró asociación con la mayor concentración de O<sub>2</sub> disuelto en la columna de agua. Nuestra hipótesis que enunciaba que los sedimentos costeros serían más diversos debido a la frecuente acumulación de materia orgánica fue refutada, pues la estación costera registró el menor porcentaje de carbono orgánico. Por su parte, la diversidad fúngica de los sedimentos en mar abierto mostró asociación con la mayor profundidad en la columna de agua, donde la acumulación de materia orgánica registró sus valores más altos. Esto sugiere que la diversidad fúngica en los sedimentos superficiales está relacionada con distintas variables ambientales.
- Respecto a la profundidad vertical en el sedimento, los sedimentos subsuperficiales fueron los más diversos, posiblemente debido a las características del sedimento depositado a través del tiempo pues, en general, mostraron asociación con el mayor porcentaje de carbono orgánico y de pH. Debido a que las variables ambientales: OD, CO, salinidad y temperatura, solo fueron medidas en la columna de agua, se sugiere llevar a cabo su medición en los sedimentos subsuperficiales para estudios subsecuentes.
- Los patrones de distribución de las comunidades fúngicas no sólo estuvieron relacionados con el porcentaje de carbono orgánico y la concentración de OD como lo habíamos hipotetizado. Esto sugiere que la distribución de las comunidades fúngicas está relacionada con distintas variables ambientales tanto a lo largo del transecto batimétrico como a distinta profundidad en el sedimento.

- Dada la gran diversidad registrada en los sedimentos anóxicos subsuperficiales y su posible relación con el elevado porcentaje de carbono orgánico, sugerimos que algunos de estos hongos podrían estar activos y desempeñando funciones ecológicas en el ciclo del carbono y del nitrógeno que deben estudiarse más a fondo, especialmente debido a sus posibles implicaciones ambientales en el calentamiento global.

## **10. Perspectivas**

- Inferir la diversidad funcional de las secuencias fúngicas mediante herramientas bioinformáticas como FUNGuild.
- Explorar las relaciones evolutivas de los *Fungi* spp. obtenidos en esta investigación.
- Aislar e identificar hongos cultivables de los sedimentos superficiales y subsuperficiales muestreados a lo largo del transecto batimétrico de la ZMO en la costa de Mazatlán.
- Integrar los datos del enfoque independiente de cultivo -obtenidos mediante esta investigación-, con el dependiente de cultivo, para complementar el conocimiento de la diversidad fúngica en el sedimento de la ZMO de la costa de Mazatlán.
- Analizar la actividad metabólica de la comunidad fúngica y su relación con los ciclos del carbono y nitrógeno.
- Identificar las causas de la elevada diversidad fúngica en el sedimento subsuperficial.

## 12. Literatura citada

- Amend, A. S., Barshis, D. J., & Oliver, T. A. (2012). Coral-associated marine fungi form novel lineages and heterogeneous assemblages. *ISME Journal*, 6(7), 1291–1301. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.193>
- Bahram, M., & Netherway, T. (2022). Fungi as mediators linking organisms and ecosystems. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 46, Issue 2). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuab058>
- Baldrian, P., Větrovský, T., Lepinay, C., & Kohout, P. (2022). High-throughput sequencing view on the magnitude of global fungal diversity. *Fungal Diversity*, 114(1), 539–547. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00472-y>
- Barone, G., Corinaldesi, C., Rastelli, E., Tangherlini, M., Varrella, S., Danovaro, R., & Dell'Anno, A. (2022). Local environmental conditions promote high turnover diversity of benthic deep-sea fungi in the Ross Sea (Antarctica). *Journal of Fungi*, 8(1), 65. <https://doi.org/10.3390/jof8010065>
- Breitburg, D., Levin, L. A., Oschlies, A., Grégoire, M., Chavez, F. P., Conley, D. J., Garçon, V., Gilbert, D., Gutiérrez, D., Isensee, K., Jacinto, G. S., Limburg, K. E., Montes, I., Naqvi, S. W. A., Pitcher, G. C., Rabalais, N. N., Roman, M. R., Rose, K. A., Seibel, B. A., ... Zhang, J. (2018). Declining oxygen in the global ocean and coastal waters. *Science*, 359(6371). <https://doi.org/10.1126/science.aam7240>
- Cepeda-Morales, J., Beier, E., Gaxiola-Castro, G., Lavín, M. F., & Godínez, V. M. (2009). Efecto de la zona del mínimo de oxígeno en el segundo máximo de clorofila en el Pacífico Oriental Tropical Mexicano. *Ciencias Marinas*, 35(4), 389–403. <https://doi.org/10.7773/cm.v35i4.1622>
- Dawson, S. C., & Pace, N. R. (2002). Novel kingdom-level eukaryotic diversity in anoxic environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(12), 8324–8329. <https://doi.org/10.1073/pnas.062169599>
- Devadatha, B., Jones, E. B. G., Pang, K. L., Abdel-Wahab, M. A., Hyde, K. D., Sakayaroj, J., Bahkali, A. H., Calabon, M. S., Sarma, V. v., Sutreong, S., & Zhang, S. N. (2021). Occurrence and geographical distribution of mangrove fungi. In *Fungal Diversity* (Vol. 106, Issue 1). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00468-0>
- Escobar, E., Sánchez, L., Almeda, J. C., Chapa-Balcorta, C., Sosa-Avalos, R., & Hernández-Ayón, J. (2019). Zona del mínimo de oxígeno en el Pacífico mexicano (F. Paz-Pellat, J. M. Hernández-Ayón, R. Sosa-Ávalos, & A. S. Velázquez-Rodríguez, Eds.; Issue June).
- Gilly, W. F., Michael Beman, J., Litvin, S. Y., & Robison, B. H. (2013). Oceanographic and biological effects of shoaling of the oxygen minimum zone. *Annual Review of Marine Science*, 5, 393–420. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120710-100849>
- Gutiérrez, M. H., Vera, J., Strain, B., Quiñones, R. A., Wörmer, L., Hinrichs, K. U., & Pantoja-Gutiérrez, S. (2020). Biochemical fingerprints of marine fungi: Implications for trophic and

- biogeochemical studies. *Aquatic Microbial Ecology*, 84(1), 75–90. <https://doi.org/10.3354/ame01927>
- Hendrickx, M., & Serrano, D. (2010). Impacto de la zona de mínimo de oxígeno sobre los corredores pesqueros en el Pacífico mexicano. *Interciencia*, 35(1).
- Jones, E. B. G. (2011). Are there more marine fungi to be described? In *Botanica Marina* (Vol. 54, Issue 4, pp. 343–354). <https://doi.org/10.1515/BOT.2011.043>
- Jones, E. B. G., Devadatha, B., Abdel-Wahab, M. A., Dayarathne, M. C., Zhang, S. N., Hyde, K. D., Liu, J. K., Bahkali, A. H., Sarma, V. v., Tibell, S., Tibell, L., Wang, M. M., Liu, F., & Cai, L. (2020). Phylogeny of new marine *Dothideomycetes* and *Sordariomycetes* from mangroves and deep-sea sediments. *Botanica Marina*, 63(2), 155–181. <https://doi.org/10.1515/bot-2019-0014>
- Jones, E. B. G., Suetrong, S., Sakayaroj, J., Bahkali, A. H., Abdel-Wahab, M. A., Boekhout, T., & Pang, K. L. (2015). Classification of marine *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Blastocladiomycota* and *Chytridiomycota*. In *Fungal Diversity* (Vol. 73, Issue 1). Kluwer Academic Publishers. <https://doi.org/10.1007/s13225-015-0339-4>
- Lee, N. L. Y., Huang, D., Quek, Z. B. R., Lee, J. N., & Wainwright, B. J. (2019). Mangrove-associated fungal communities are differentiated by geographic location and host structure. *Frontiers in Microbiology*, 10(OCT). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02456>
- Levin, L. (2003). Oxygen minimum zone benthos: adaptation and community response to hypoxia. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 41, 1–45. <http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=64crGFXWn5gC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Oxygen+minimum+zone+benthos:+adaptation+and+community+response+to+hypoxia&ots=LXJDHtKi3-&sig=z7UbcIajtcoUDCFsxJFmjB7igaw>
- Liu, C. H., Huang, X., Xie, T. N., Duan, N., Xue, Y. R., Zhao, T. X., Lever, M. A., Hinrichs, K. U., & Inagaki, F. (2017). Exploration of cultivable fungal communities in deep coal-bearing sediments from ~1.3 to 2.5 km below the ocean floor. *Environmental Microbiology*, 19(2), 803–818. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13653>
- Nagano, Y., Konishi, M., Nagahama, T., Kubota, T., Abe, F., & Hatada, Y. (2016). Retrieval of deeply buried culturable fungi in marine subsurface sediments, Suruga-Bay, Japan. *Fungal Ecology*, 20, 256–259. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.12.012>
- Pang, K. L., Overy, D. P., Jones, E. B. G., Calado, M. da L., Burgaud, G., Walker, A. K., Johnson, J. A., Kerr, R. G., Cha, H. J., & Bills, G. F. (2016). ‘Marine fungi’ and ‘marine-derived fungi’ in natural product chemistry research: Toward a new consensual definition. In *Fungal Biology Reviews* (Vol. 30, Issue 4, pp. 163–175). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.08.001>
- Rogers, A. D. (2000). The role of the oceanic oxygen minima in generating biodiversity in the deep sea. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 47(1–2), 119–148. [https://doi.org/10.1016/S0967-0645\(99\)00107-1](https://doi.org/10.1016/S0967-0645(99)00107-1)
- Roik, A., Reverter, M., & Pogoreutz, C. (2022). A roadmap to understanding diversity and function of coral reef-associated fungi. *FEMS Microbiology Reviews*, 46(6). <https://doi.org/10.1093/femsre/fuac028>

- Sánchez-Pérez, E. D., Sánchez-Velasco, L., Ruvalcaba-Aroche, E. D., Ornelas-Vargas, A., Beier, E., Barton, E. D., Peña, M. A., Godínez, V. M., & Contreras-Catala, F. (2021). Temperature and dissolved oxygen concentration in the Pacific Ocean at the northern region of the oxygen minimum zone off Mexico between the last two PDO cool phases. *Journal of Marine Systems*, 222. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2021.103607>
- Shoun, H., Kim, D.-H., Uchiyama, H., & Sugiyama, J. (1992). Denitrification by fungi. *FEMS Microbiology Letters*, 94(3), 277–281. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb05331.x>
- Singh, P., Raghukumar, C., Verma, P., & Shouche, Y. (2011). Fungal community analysis in the deep-sea sediments of the Central Indian Basin by culture-independent approach. *Microbial Ecology*, 61(3), 507–517. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9765-8>
- Ulloa, O., Canfield, D. E., DeLong, E. F., Letelier, R. M., & Stewart, F. J. (2012). Microbial oceanography of anoxic oxygen minimum zones. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(40), 15996–16003. <https://doi.org/10.1073/pnas.1205009109>
- Velez, P., Walker, A. K., Gasca-Pineda, J., Barrios, A., Divanli, D., González, M. C., & Nakagiri, A. (2021). Fine-scale temporal variation of intertidal marine fungal community structure: insights from an impacted Baja California sandy beach in Mexico. *Marine Biodiversity*, 51(1). <https://doi.org/10.1007/s12526-020-01148-7>
- Velez, P., Walker, A. K., González, M. C., Subash S. Narayanan, S., & Nakagiri, A. (2022). In depth review of the ecology of arenicolous marine fungi. *Fungal Ecology*, 60. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2022.101164>
- Vera, J., Gutiérrez, M. H., Palfner, G., & Pantoja, S. (2017). Diversity of culturable filamentous *Ascomycetes* in the eastern South Pacific Ocean off Chile. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(8), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2321-7>
- Walker, A. K., Vélez, P., & González, M. C. (2017). Marine Fungi. In *eLS* (pp. 1–6). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0027209>
- Walsh, E. A., Kirkpatrick, J. B., Rutherford, S. D., Smith, D. C., Sogin, M., & D’Hondt, S. (2016). Bacterial diversity and community composition from seasurface to seafloor. *ISME Journal*, 10(4), 979–989. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.175>
- Wei, X., Guo, S., Gong, L. F., He, G., Pang, K. L., & Luo, Z. H. (2018). Cultivable fungal diversity in deep-sea sediment of the East Pacific Ocean. *Geomicrobiology Journal*, 35(9), 790–797. <https://doi.org/10.1080/01490451.2018.1473531>
- Zamorano, P., Hendrickx, M. E., Méndez, N., Gómez, S., Serrano, D., Aguirre, H., Madrid, J., & Morales-Serna, F. N. (2014). La exploración de las aguas profundas del Pacífico mexicano: El proyecto TALUD. In *La frontera final: El océano profundo* (pp. 107–151).