



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES
UNIDAD MÉRIDA**

**Metataxonómica de bacterias como
indicador de la descarga de xenobióticos por el
Anillo de Cenotes en el sedimento de manglar rojo**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN CIENCIAS DE LA TIERRA**

**PRESENTA:
AVILA CASTRO LUIS ALEJANDRO**

**ESCUELA
NACIONAL DE
ESTUDIOS
SUPERIORES
UNIDAD
MÉRIDA**

**TUTORA
Dra. Zuemy Rodríguez Escamilla**

Mérida, Yucatán 2024



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.

Con todo mi amor para mi mamá y papá.

Agradecimientos

Quiero agradecer mi mamá y papá, gracias por ser esa red de apoyo y amor incondicional que está incluso en los momentos más complicados de esta aventura. No tengo palabras para describir lo mucho que los quiero.

A mis sobrinos y hermana, por inspirarme para seguir en la batalla contra el cambio climático y los problemas de este mundo.

A mis amigos de la prepa Paola, Claudia, Mario, Max, Angie... gracias por estar ahí en momentos claves de mi desarrollo de personaje, aunque estamos lejos siempre los llevo en mi corazón. En francés se dice *No parle mu*.

A mis amigos de la ENES, Dany, Manuel, Ulises, Paty, AKSR (), gracias por los consejos para el desarrollo de este trabajo, las aventuras, reflexiones, y pandemia compartidas. Llegar a este punto no hubiera sido posible sin su apoyo.

A la Dra./Profa. Quintero García, aunque desconozco su paradero, gracias por mostrarme el camino de la investigación y el amor a la biología. *El individuo no ha bailado las calmadas*.

A la Dra. Zuemy Rodríguez y al Dr. Mario Alberto, gracias por dejarme entrar a su laboratorio y confiar en mis habilidades para realizar este proyecto. Pronto nos estaremos leyendo y colaborando en nuevos proyectos.

A la Dra. Wendy, Dr. Luis, y Dr. Norberto, por sus comentarios y correcciones que han hecho de este trabajo una obra de gran calidad.

A la comunidad universitaria, por construir y defender los derechos con los que cuenta la UNAM. La educación siempre debe ser pública y de calidad.

Finalmente, este trabajo fue realizado con el apoyo financiero del proyecto DGAPA-PAPIIT, UNAM IN223021, y el proyecto CONAHCYT-Ciencia Básica A1-S-16959.



Manglares Dzilam

Índice

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
CONTEXTO AMBIENTAL DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN	3
<i>Karst de Yucatán</i>	3
<i>Cenotes y el Anillo de Cenotes</i>	4
<i>Hidrología regional y Anillo de Cenotes</i>	7
<i>Manglares de la Península de Yucatán</i>	9
HERRAMIENTAS MOLECULARES	11
<i>Metataxonómica</i>	11
<i>Herramientas de predicción funcional</i>	13
ANTECEDENTES	15
EFECTOS DE LA ACTIVIDAD HUMANA EN LA PENÍNSULA DE YUCATÁN	15
<i>Contaminación de acuífero kárstico</i>	15
METATAXONÓMICA DE MANGLARES Y DETECCIÓN DE XENOBIÓTICOS	17
<i>Metataxonómica en manglares y efecto de antrópicos</i>	17
<i>Metataxonómica de sedimentos de manglares de la PY</i>	18
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	20
OBJETIVOS	21
OBJETIVO GENERAL	21
OBJETIVOS PARTICULARES	21
METODOLOGÍA	22
SELECCIÓN DEL SITIO DE MUESTREO	22
MUESTREO	23
EXTRACCIÓN DE DNA Y SECUENCIACIÓN	25
PROCESAMIENTO SECUENCIAS	25
CORE MICROBIANO	26
PREDICCIÓN DE POTENCIALES PERFILES FUNCIONALES	27
RESULTADOS	28
ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE LA COMUNIDAD MICROBIANA	28
<i>Core microbiano</i>	31
PREDICCIÓN DE POTENCIALES PERFILES FUNCIONALES	33
<i>Análisis de expresión diferencial Ortólogos del KEGG (KO)</i>	35
RUTAS DE BIODEGRADACIÓN DE XENOBIÓTICOS	36
DISCUSIÓN	37
CONCLUSIONES	42
PERSPECTIVAS	43
REFERENCIAS	44
ANEXOS	57

Resumen

Los manglares de la Península de Yucatán se encuentran estrechamente relacionados con las descargas de agua que provienen del acuífero y que son conducidas por el Anillo de Cenotes. Sin embargo, el desarrollo de las actividades humanas en la región ha contaminado el acuífero regional poniendo en riesgo la salud de este ecosistema. En este trabajo se tomaron muestras de sedimento asociadas a manglar rojo (*Rhizophora mangle*) en dos zonas con influencia del Anillo de Cenotes y se caracterizó la comunidad microbiana presente utilizando la amplificación del gen 16S rRNA, además se utilizó la herramienta de predicción funcional PICRUST2 para identificar la presencia de potenciales rutas de biodegradación de xenobióticos. Se encontró que la comunidad microbiana está constituida principalmente por bacterias de las clases *Dehalococcoidia* y *Anaerolineae*, del Filo *Chloroflexi*; *Alphaproteobacteria* del filo *Pseudomonadota*; y arqueas de la clase *Woesarchaeia* y *Bathyarchaeia*. Se observó que la composición de la comunidad difiere entre regiones, pero no por estatus de conservación. Así mismo, se identificó la presencia de rutas de biodegradación de xenobióticos, pero estas no mostraron diferencias entre regiones de muestreo o estatus de conservación. La dominancia de *Dehalococcoidia* en los sitios de estudio difiere ligeramente de lo reportado en la literatura, este hallazgo se podría relacionar con los procesos de degradación de materia orgánica en los manglares, así como con la presencia de Hexaclorociclohexano (HCH), Aldrín, y Dieldrina proveniente de descargas del Anillo de Cenotes.

Palabras clave: gen 16S rRNA, Metataxonómica, Amplicones, Anillo de Cenotes, Karst, Manglar, Xenobióticos, Yucatán, Dzilam, El Palmar

Abstract

The mangroves of the Yucatan Peninsula are closely related to the water discharges that come from the aquifer and are conducted by the Cenote Ring. However, the development of human activities in the region has contaminated the regional aquifer, putting the health of this ecosystem at risk. In this work, sediment samples associated with red mangrove (*Rhizophora mangle*) were taken in two areas influenced by the Cenotes Ring and the microbial community present was characterized using the amplification of the 16S rRNA gene. In addition, the PICRUST2 functional prediction tool was used to identify the presence of potential xenobiotic biodegradation routes. It was found that the microbial community is mainly made up of bacteria from the classes *Dehalococcoidia* and *Anaerolineae*, from the Phylum *Chloroflexi*; *Alphaproteobacteria* of the phylum *Pseudomonadota*; and archaea of the class *Woesarchaeia* and *Bathyarchaeia*. It was observed that community composition differs between regions, but not by conservation status. Likewise, the presence of xenobiotic biodegradation routes was identified, but these did not show differences between sampling regions or conservation status. The dominance of *Dehalococcoidia* in the study sites differs slightly from that reported in the literature; this finding could be related to the degradation processes of organic matter in the mangroves, as well as the presence of Hexachlorocyclohexane (HCH), Aldrin, and Dieldrin. coming from discharges from the Cenote Ring.

Palabras clave: gen 16S rRNA, Metataxonomics, Amplicons, Cenote ring, Karst, Mangrove, Xenobiotics, Yucatán, Dzilam, El Palmar

Introducción

Contexto ambiental de la Península de Yucatán

Karst de Yucatán

La Península de Yucatán (PY) se localiza en la porción sureste de México abarcando los estados de Yucatán, Campeche y Quintana Roo. Fisiográficamente esta se encuentra en la provincia de la Península de Yucatán, formando parte del Bloque de Yucatán (Servicio Geológico Mexicano, 2005). Los afloramientos que constituyen a la PY se encuentran conformados en su totalidad por una serie de sedimentos calcáreos consolidados de origen marino que están dispuestos en estratos horizontales con poca o nula deformación. Estos se constituyen por las formaciones Icaiché, del Paleoceno; Chichén Itzá, del Eoceno; y Felipe Carrillo Puerto, del Plioceno-Pleistoceno, siendo esta última la que tienen una mayor extensión (Figura 1) (Estrada-Medina et al., 2019; García et al., 2010; Servicio Geológico Mexicano, 2005). Debido a la abundancia de rocas calizas en la PY, a esta se le considera el afloramiento de rocas calizas más grande de México (Estrada-Medina et al., 2019).

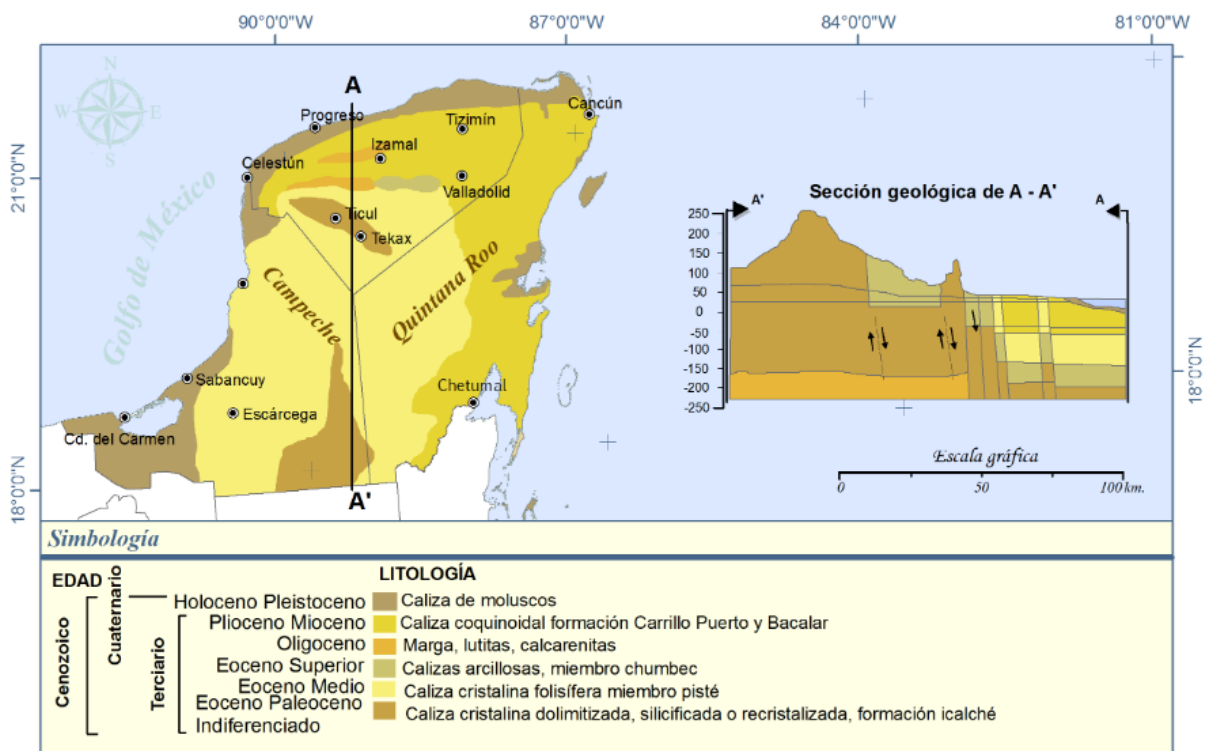


Figura 1. Clasificación Geológica de la Península de Yucatán. Imagen tomada de García *et al* 2010.

La abundancia de rocas calizas en la PY ha dado paso al desarrollo de un ambiente conocido como Karst. El Karst es un ambiente que tiene una hidrología y morfología que es resultado de los procesos de solubilidad de las rocas evaporíticas que lo constituyen (Ford & Williams, 2007; Trofimova & Hada, 2016). Se calcula que este ambiente abarca aproximadamente un 20 % de la superficie terrestre (Ford & Williams, 2007; Frumkin, 2013) y en el caso de la PY se extiende por 115,000 km² (Jeffrey K., 2002). El Karst tiene una amplia variedad de expresiones en la superficie y en el subsuelo como los karren, dolinas (cenotes), uvalas, poljes, valles kársticos y sistemas de cavernas. La formación de estas estructuras es resultado de los procesos de disolución, colapso y construcción de la roca constituyente. La disolución es un fenómeno que ocurre en presencia de ácido carbónico, sulfuro de hidrógeno, además de ser resultado de cambios en temperatura y la actividad biológica en el agua (Estrada-Medina et al., 2019; Frumkin, 2013). La disolución en el Karst se encuentra estrechamente relacionada con la precipitación y con la presencia de agua de mar, siendo esta última el factor de disolución de mayor importancia en la PY (Monroy-Ríos, 2016).

Cenotes y el Anillo de Cenotes

La historia geológica acontecida en la PY, así como los procesos geológicos de disolución, colapso y construcción del Karst han generado diferencias en la geomorfología de la región. A partir de diversos estudios geomorfológicos y litológicos se ha identificado que la PY cuenta con tres subprovincias fisiográficas; Karst de Yucatán; Karst y Lomeríos de Campeche; y Costa baja de Quintana Roo, y con 29 topoformas asociadas a estas subprovincias (figura 2) (Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), 2016; INEGI, 2002). De estas, el Karst Yucateco es la subprovincia de mayor extensión abarcando la totalidad del Estado de Yucatán, y partes de los estados de Campeche y Quintana Roo. En esta subprovincia resalta la abundancia de dolinas inundadas que son conocidas como cenotes las cuales representan la geoforma más popular y abundante de la PY (Beddows et al., 2007; Espinasa-Pereña, 1990).

Los cenotes son depresiones semicirculares de paredes verticales que están rellenas de agua hasta el nivel freático (Espinasa-Pereña, 1990; Molina, 2015). Estos son originados por los procesos de disolución, colapso, y construcción de los ambientes kárstico (Beddows et al., 2007; Monroy-Ríos, 2016). La PY ha sido afectada por incrementos y descensos en el nivel de mar desde el Jurásico estos cambios en el nivel del mar han modificado la profundidad de la haloclina permitiendo una mayor

disolución de las rocas (Escobar-Sánchez, 2005). Lo anterior, ha dado las condiciones para la formación de una extensa red de cenotes (Bauer-Gottwein et al., 2011; Monroy-Ríos, 2016). De acuerdo con Aguilar *et al.*, (2016), la PY cuenta con 4,620 cenotes. Sin embargo, esta cifra puede ser mucho mayor ya que sólo para el Estado de Yucatán se calcula la existencia de entre 7,000 y 8,000 de estas geoformas, pero su ubicación y cuantificación se dificulta debido a la vegetación de la región (Beddows et al., 2007).

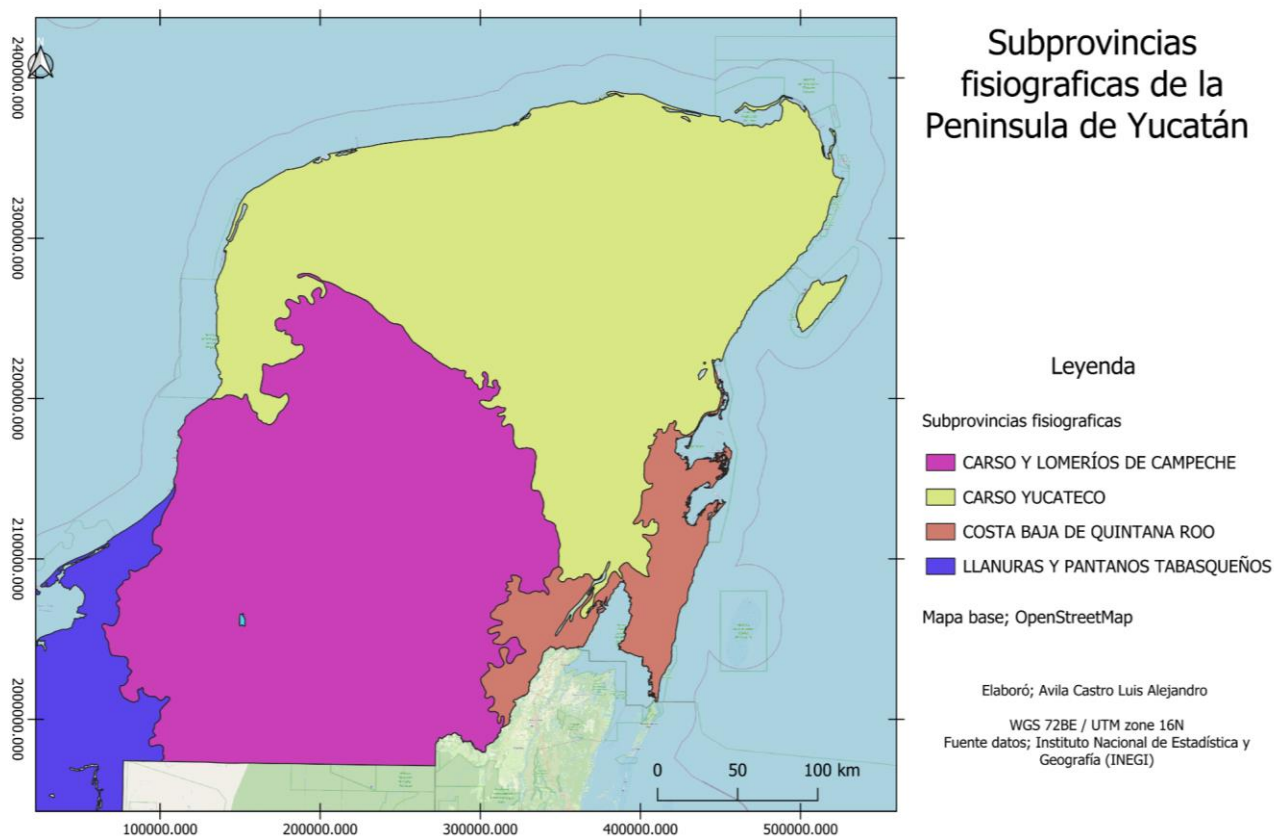


Figura 2. Subprovincias fisiográficas de la Península de Yucatán. Elaboración propia en base a información del INEGI, 2021.

Los cenotes no siguen una distribución uniforme a lo largo del Karst Yucateco, ya que estos se concentran en dos zonas; el Anillo de Cenotes en el centro del Estado de Yucatán, y en la porción oeste del mismo estado (Figura 3) (Connors et al., 1996; Espinasa-Pereña, 1990). El Anillo de Cenotes corresponde a una región semicircular con una alta densidad de cenotes y de alta conductividad hidráulica ubicada en el norte de la PY (Gupta et al., 2013). Este tiene una longitud aproximada de 170 km de diámetro abarcando desde Celestún al Este PY hasta Dzilam de Bravo en el Oeste de la Península (INEGI, 2016). El origen y características del Anillo de Cenotes no se puede explicar si sólo se

consideran los procesos de Karst, pero puede ser entendido sí se toma en cuenta la presencia del cráter de impacto de Chicxulub en la región (Connors et al., 1996) el cual es una estructura de impacto de 180 km de diámetro que se encuentra enterrada bajo los sedimentos calcáreos de la PY. Este cráter corresponde al impacto de un meteorito/asteroide que se relaciona con los cambios climáticos que llevaron a la extinción masiva que marca el final del Cretácico y el comienzo del Paleógeno (K/Pg) (Hildebrand et al., 1991). De acuerdo con Connors et al., (1996), existe una correlación espacial entre el anillo exterior del cráter de impacto y la distribución de cenotes en la superficie, siendo la presencia de fallas en el basamento generadas por el impacto la posible causa de la distribución de cenotes en la superficie.

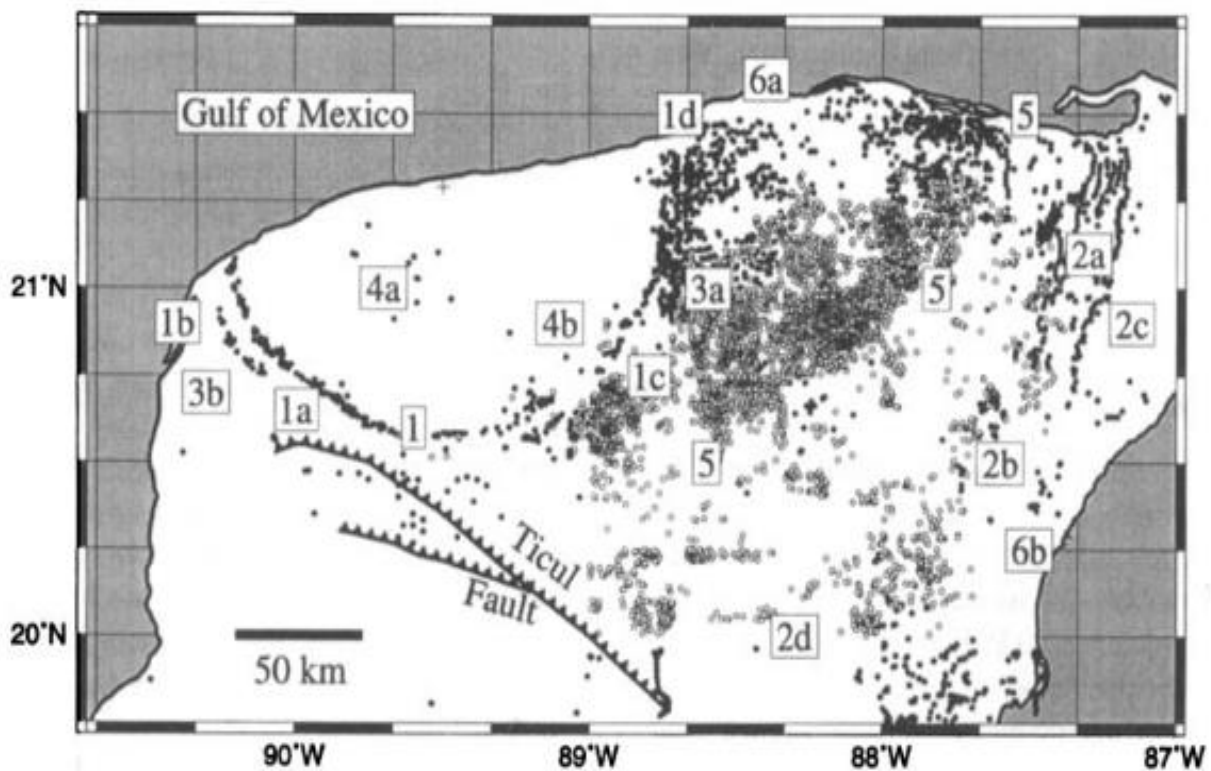


Figura 3. Rasgos Kársticos del norte de la Península de Yucatán. 1) Anillo de Cenotes 3a) Campo de dolinas. Tomado de Connors et al. 1996.

Hidrología regional y Anillo de Cenotes

Las propiedades de permeabilidad y porosidad de la roca caliza del Karst, así como la morfología y las características climáticas de la región, ocasionan que gran parte del agua que precipita en la PY se infiltre fácilmente, evitando la formación de cuerpos de agua superficiales y dando paso a la formación acuíferos (Graniel Castro, 2010). De acuerdo con (Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), 2022), en la PY hay cuatro acuíferos; Cerros y valles, Isla de Cozumel, Xpujil y Península de Yucatán, este último es el de mayor extensión (Figura 4). El Acuífero de la Península de Yucatán o Gran Acuífero Maya, es un acuífero no confinado, excepto en la zona costera, que se constituye por un lente de agua dulce que sobreyace a una capa de agua salada (Escolero et al., 2000). Este tiene una extensión de 124,409 km² (CONAGUA), 2023), abarcando los Estados de Campeche, Quintana Roo y Yucatán, además de algunas partes de Tabasco, Belice y Guatemala (Bauer-Gottwein et al., 2011; CONAGUA, 2023). Este forma parte de la Región hidrológico-administrativa (RHA) Cuenca Península de Yucatán, abarcando a una población de 4 857 556 habitantes, representando la principal fuente de agua dulce de la región (González-Herrera et al., 2002), donde el principal uso del agua se da por el sector agrícola, seguido por la industria autoabastecida y el abastecimiento público (CONAGUA, 2022,2023).



Figura 4. Extensión y ubicación de los Acuíferos de la Península de Yucatán. Tomado de CONAGUA 2023

Una de las características más importantes de este acuífero es la estrecha relación que tienen sus flujos con las estructuras geológicas que conforman a la PY. De acuerdo con Bauer-Gottwein et al., (2011) se pueden identificar tres tipos de estructuras que modifican y direccionan el flujo de agua en el acuífero; las fracturas de escala regional, como el Anillo de Cenotes, las fracturas de Holbox y la Sierrita de Ticul; los grandes conductos de disolución, donde se incluyen a los sistemas de cavernas de Quintan Roo y estructuras de disolución de pequeña escala. A nivel regional, el Anillo de Cenotes es la estructura que tiene mayor relevancia ya que debido a su alto nivel de fracturamiento, permite una infiltración facilitada del agua de precipitación (Perry & Socki, 2003). Así mismo, el Anillo de Cenotes cuenta con un gradiente hidráulico lo que genera un flujo preferencial que lleva agua de la región sur de la PY a la costa norte de la península (González-Herrera et al., 2002; Murgulet et al., 2020) descargando en las proximidades de Celestún, Dzilam de Bravo y San Felipe (Figura 5) abasteciendo de agua dulce a los ecosistemas costeros y a los habitantes de la región (CONAGUA, 2022; Graniel Castro, 2010).

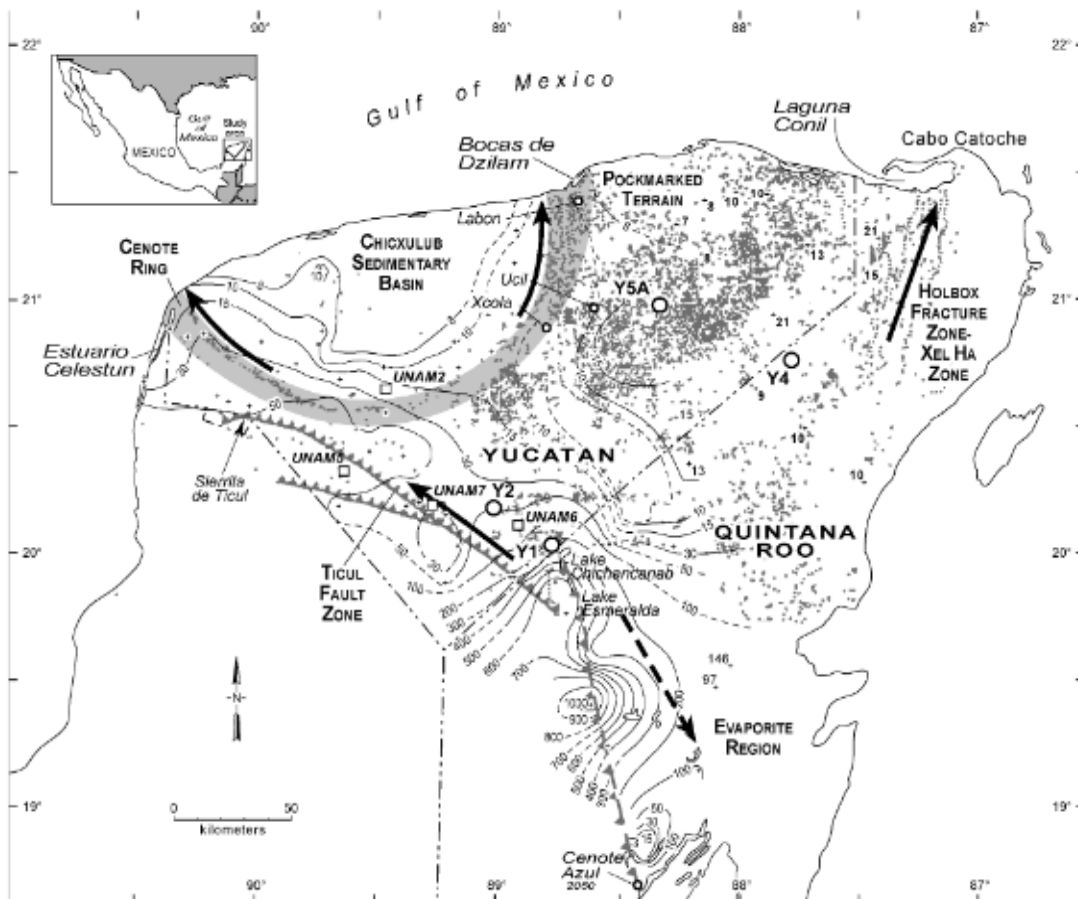


Figura 5. Mapa hidrológico del Estado de Yucatán. Tomada de Andrade-Gómez et al 2019.

Manglares de la Península de Yucatán

Los manglares son formaciones boscosas leñosas tolerantes a la salinidad, que se localizan en la transición entre el ambientes terrestre y acuático y que se desarrollan en latitudes tropicales y subtropicales (Acosta Velázquez et al., 2013; FAO, 2023). Estos se caracterizan por tener adaptaciones que les permite desarrollar suelos con condiciones anaerobias e inundadas; crecer en sitios con altas concentraciones de sal; así como tener afinidad a los ambientes acuáticos, estar agrupados geográficamente por especie y en algunos casos presentar viviparidad (Hamilton, 2020). Los manglares tienen un papel fundamental en el desarrollo de las actividades humanas en la zona costera, a nivel internacional, ya que proporcionan diversos servicios ambientales, entre estos servicios se puede mencionar el suministro de madera, primera línea de defensa continental ante eventos hidrometeorológicos, la protección de crías de especies de interés comercial o de protección, el desarrollo turístico, y la captura de carbono (Acosta Velázquez et al., 2013).

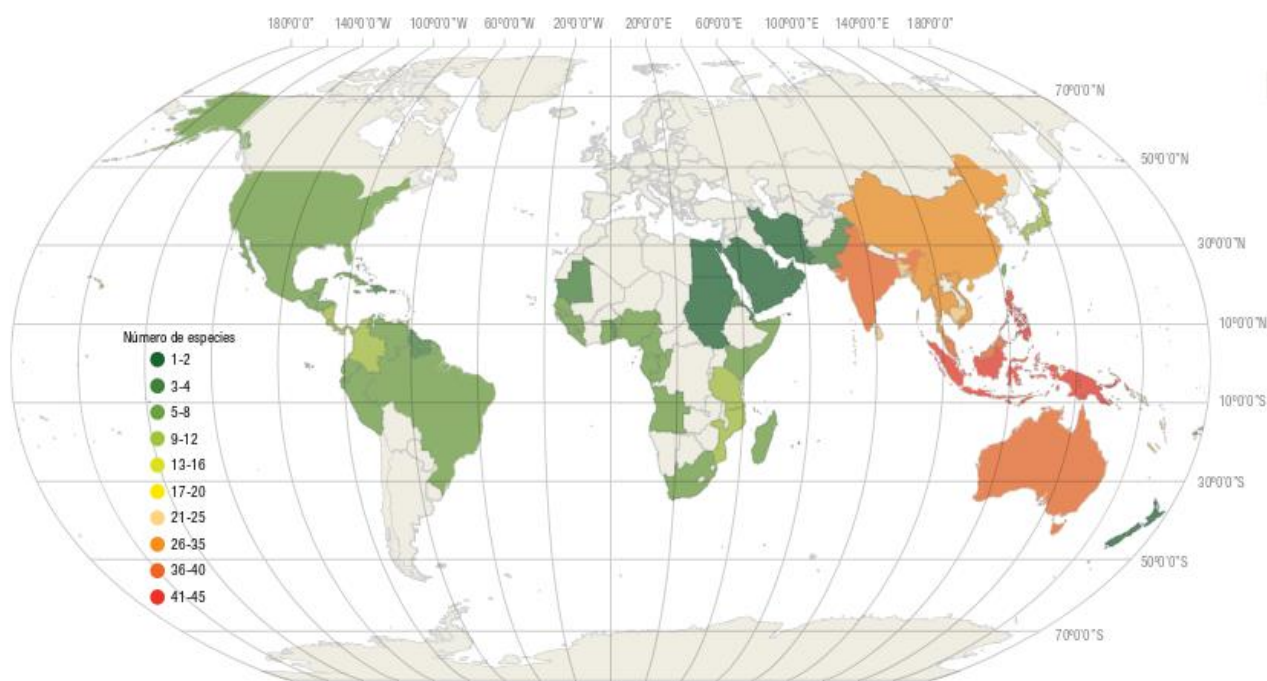


Figura 6. Representación de los países en los que se encuentra distribuido el manglar y el número de especies presentes en ellos. Tomada de Acosta-Velázquez *et al* 2013.

México cuenta con el 6.7 % de los manglares a nivel mundial, y sólo la PY alberga el 60% de los manglares a nivel nacional abarcando 544 169 ha (Figura 6) (Velázquez-Salazar et al., 2021). En la PY se ha identificado la presencia de cuatro de las seis especies de manglar que hay en México; Mangle rojo (*Rhizophora mangle*), mangle blanco (*Laguncularia racemosa*), mangle negro (*Avicennia germinans*), y mangle botoncillo (*Conocarpus erectus*) (Acosta Velázquez et al., 2013; López-Portillo & Ezcurra, 2002). La distribución de estos a lo largo de la costa de la PY se encuentra estrechamente relacionada con las características hidrológicas donde se han distinguido dos escenarios de desarrollo; el escenario húmedo, relacionado con las descargas de agua del Anillo de Cenotes en las zonas de Dzilam y Celestún; y el escenario seco, que se relaciona con una mayor influencia de la precipitación en las zonas de Sisal, Progreso, Telchac y Río Lagartos. Así mismo, las características de inundación y microtopografía han dado paso a cuatro ecotipos de manglar; manglar tipo franja localizado en la línea de costa; manglar cuenca localizado detrás del manglar de franja; manglar chaparro, que se encuentra detrás del tipo cuenca asociado a una menor cantidad de nutrientes, y manglar petén que se relacionan con ojos de agua y cenotes (Figura 7) (Zaldívar Jiménez et al., 2010).

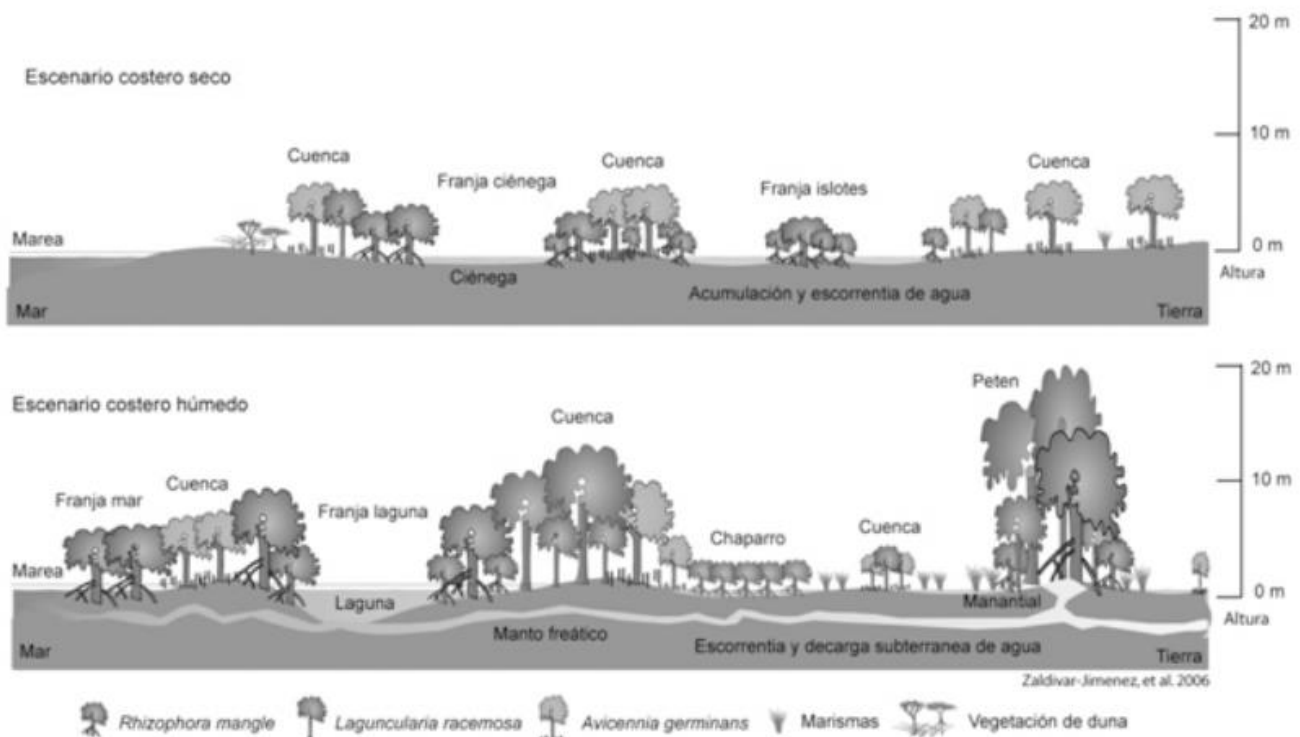


Figura 7. Escenarios de manglar húmedo y seco en Yucatán. Modificado de Zaldívar Jiménez et al (2010)

Herramientas moleculares

Metataxonómica

Los microorganismos han tenido un papel central a lo largo de la historia de la tierra. Aunque su origen aún es desconocido, se reconoce que estos fueron la principal fuerza biológica de cambio en las condiciones del sistema tierra antes de la llegada del ser humano (Cavalier-Smith et al., 2006). De forma tradicional el estudio de este grupo de seres vivos se realiza por medio de cultivo y pruebas de carácter bioquímico, pero se reconoce que la mayor parte de los microorganismos presentes en el medio ambiente no se pueden aislar, crecer y estudiar utilizando medios tradicionales (Streit, W. R., & Schmitz, R. A., 2004). Lo anterior, ha dificultado el análisis de las comunidades de microorganismos presentes en muestras ambientales como el suelo, agua y sedimentos. Sin embargo, en las últimas décadas con el desarrollo de herramientas de secuenciación de DNA, como con la secuenciación de alto rendimiento (*HTS*), ha sido posible estudiar a estas comunidades incluyendo aquellas no cultivables, profundizando el conocimiento respecto a la composición de las comunidades microbianas, así como de la taxonomía y función de los miembros de la comunidad (Ortiz-Estrada et al., 2019).

Existen diferentes aproximaciones para la caracterización de comunidades microbianas por *HTS*. Una de la más utilizada es la metagenómica de amplicones también llamada como 16S rRNA *survey*, metagenómica de amplicones o metataxonómica como se denomina en este trabajo. La metataxonómica consiste en la caracterización del microbiota y la creación de un árbol meta taxonómico que muestre las relaciones entre las secuencias obtenidas (Marchesi & Ravel, 2015). La metataxonómica utiliza marcadores filogenéticos que contengan regiones altamente conservadas, así como regiones que son hipervariables (Kuczynski et al., 2012; Nguyen et al., 2016). Algunos de los marcadores más utilizados en la metataxonómica son los genes: 16S rRNA (Kim & Chun, 2014), utilizado para la caracterización de bacterias y arqueas; 18S rRNA; utilizado en células de eucariontes; y el Espaciador transcrito interno (*ITS*), que se ha utilizado para la caracterización de hongos, así como identificar variaciones intraespecíficas (da Cunha, 2019; Walker et al., 2022). El uso de estos marcadores permite utilizar herramientas moleculares generales para el grupo de interés y obtener una clasificación taxonómica que puede llegar a nivel de familia o género (Kuczynski et al., 2012). Así mismo, la metataxonómica al estar enfocada en genes específicos resulta en menores costos, lo que hace de esta técnica una candidata ideal para la exploración de las comunidades de microorganismos antes de utilizar técnicas más complejas y costosas (Tickle et al., 2013).

Los estudios de metataxonómica constan de diferentes etapas para su realización. En una primera instancia se debe identificar el grupo de interés para seleccionar el gen marcador que se utilizará para la caracterización de la comunidad. Posteriormente, es necesario identificar los *primers* o cebadores que se utilizarán para la secuenciación del gen marcador, este paso es fundamental para un buen estudio, ya que existen algunos *primers* que no son sensibles para algunos grupos. Por lo anterior, se debe utilizar sólo aquellos que proporcionen información taxonómica y filogenética de calidad, tradicionalmente en los estudios de comunidades de procariontes esto se consigue utilizando los *primers* que amplifican las regiones hipervariables V1-V2 y V3-V3 del gen 16S rRNA (Kuczynski et al., 2012; Nguyen et al., 2016). Una vez que se ha seleccionado el gen marcado y los *primers* se puede realizar la colecta de muestra, la colecta de muestra depende de la pregunta de investigación y las características del ambiente. En la actualidad existen diversas técnicas de muestreo para diferentes matrices ambientales como agua, suelo y sedimento en donde se busca evitar la contaminación de la muestra (Bertrand et al., 2015). Las muestras obtenidas son enviadas a laboratorio en donde se realiza la extracción y amplificación del DNA de interés por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (*PCR*) y se realiza la secuenciación. El proceso de secuenciación se puede realizar utilizando diferentes plataformas, algunas de las más utilizadas son Illumina MiSeq, Ion Torrent PGM, and Roche 454 GS FLX Titanium (Allali et al., 2017). Finalmente, como resultado de la secuenciación se obtienen archivos digitales que contienen la información de las secuencias obtenidas (Figura 8).

Los resultados de la secuenciación de las muestras deben ser analizados e interpretados. Para esto se pueden utilizar diferentes programas bioinformáticos como Mothur (Schloss et al., 2009) o Qiime 2 (Bolyen et al., 2019) que facilitan el análisis de las secuencias obtenidas por *HTS*. Estos programas incorporan herramientas enfocadas al estudio de estos datos, como DADA2 que permite el filtrado y unión de secuencias, así como la eliminación de quimeras y secuencias con valores de calidad (*phred values*) de bajos (Callahan et al., 2016); la agrupación de secuencias por similitud formando Variantes de Secuencia del Amplicón (*ASV*); la clasificación taxonómica de *ASV*, utilizando bases de datos de referencia como SILVA (Quast et al., 2012) o GreenGenes (McDonald, D. et al 2012); y la obtención de los índices de diversidad, además de permitir la reproducibilidad de los resultados (Bolyen et al., 2019; Schloss et al., 2009).

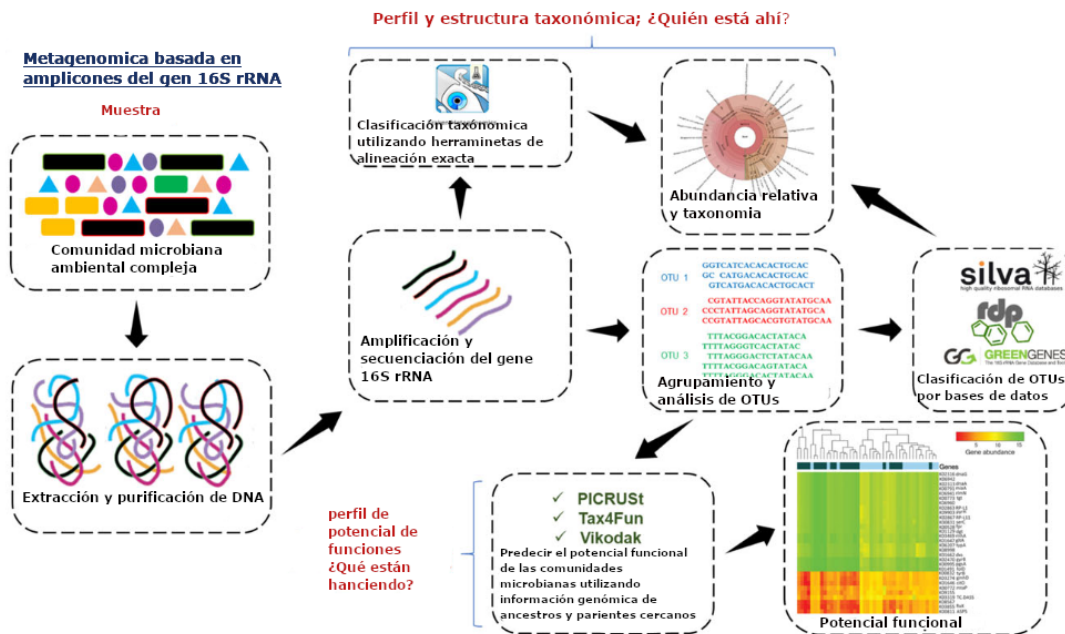


Figura 8. Flujo de trabajo general realizado en el análisis de metataxonómica. Modificada de (Ortiz-Estrada et al., 2019).

Herramientas de predicción funcional

En la actualidad para poder determinar las funciones de una comunidad microbiana se utilizan estrategias de secuenciación masiva de tipo *shotgun*, en donde se hace la secuenciación de todo el DNA presente en las muestras o se realizan estudios de tipo metatranscriptómica en donde se caracteriza el RNA presente en una muestra recuperando información sobre la función de la comunidad (Kelly et al., 2017). No obstante, la secuenciación de tipo *shotgun* y metatranscriptómica tiene un costo muy elevado en comparación con la secuenciación del amplicón lo cual dificulta su aplicación. Sin embargo, en los últimos años se han desarrollado diferentes programas que pueden realizar una predicción de perfiles funcionales de las comunidades microbianas, utilizando sólo la información proporcionada por la secuenciación de genes marcadores como el gen 16S rRNA (Douglas et al., 2020; Langille et al., 2013; Mongad et al., 2021; Wemheuer et al., 2020).

Aunque la secuenciación de los marcadores moleculares no puede proporcionar de forma directa información sobre la función de las comunidades microbianas. se pueden realizar inferencias de las funciones tomando como referencia las bases de datos públicas que contienen las secuencias de

genomas completos. Herramientas de predicción funcional como PICRUSt2 o Tax4Fun2 para la predicción funcional han sido aplicadas para la caracterización de diferentes matrices ambientales (Gaiero et al., 2021; Hu et al., 2023). Estas herramientas han mostrado buen rendimiento en ambientes con baja diversidad como los modelos humanos, en donde se han permitido reconocer patrones en pacientes con diferentes padecimientos. Sin embargo, en estudios de ambientes distintos a los humanos como cuerpos de agua, suelos y sedimentos. se debe tener precaución con los resultados ya que estos sólo representan una inferencia indirecta que puede estar sesgada por las bases de datos existentes y la naturaleza de los datos (Connors et al., 1996; Sun et al., 2020). Esto es especialmente importante cuando se tratan de ambiente que han sido poco caracterizados o en matrices complejas ya que la existencia de bases de datos puede ser escasa o puede estar desactualizadas lo que puede llevar a mal interpretaciones en los resultados (Djemiel, C *et al* 2022). Lo anterior, puede llevar a considerar el uso de herramientas que puedan proveer datos funcionales más certeros como *shotgun* o metatranscriptómica que pueden ayudar a validar los resultados generados por las predicciones.

Antecedentes

Efectos de la actividad humana en la Península de Yucatán

Contaminación de acuífero kárstico

Debido a las características kársticas, a la poca presencia de suelo y a los niveles del acuífero de la PY, contaminantes como aguas residuales, agroquímicos, efluentes industriales y materia orgánica se pueden filtrar fácilmente y contaminar el acuífero (INEGI, 2002). A partir del uso de índices de contaminación del acuífero se ha identificado que los sitios con una mayor grado de vulnerabilidad y riesgo de contaminación del acuífero en el Estado de Yucatán se localizan en puntos con alta densidad de dolinas y en las zonas costeras (Moreno-Gómez *et al.*, 2022); en las regiones noreste, litoral centro, occidente y poniente (González-Herrera *et al.*, 2002) así como en la zona norte, este y noroeste del estado relacionadas con regiones donde se desarrollan actividades agrícolas y de ganadería intensiva (Gijon-Yescas, 2007). Lo anterior tiene gran importancia ya que se ha reportado que los agricultores utilizan agroquímicos como el endosulfán, lindano, aldrin/dieldrin, diclorodifeniltricloroetano (DDT) heptachlor, metamidofos, paratión, mancozeb, metomilo, oximil, paraquat, acetamiprid, y agroquímicos de aminoácidos (A. G. Polanco Rodríguez *et al.*, 2015; Á. G. Polanco Rodríguez *et al.*, 2017; Polanco-Rodríguez *et al.*, 2020) y se ha observado que algunos de estos agroquímicos no sé absorben en el suelo al ser altamente hidrofóbicos amenazando al acuífero kárstico (Alfonso *et al.*, 2017)

Las evaluaciones de muestras de agua del acuífero han demostrado la presencia de residuos de los agroquímicos utilizados en la región. Estos han sido observados en la región del Anillo de Cenotes (A. G. Polanco Rodríguez *et al.*, 2015; Polanco-Rodríguez *et al.*, 2020; Rodríguez *et al.*, 2018) y algunos casos se han identificado agroquímicos prohibidos por la legislación mexicana, además de alcanzar concentraciones que superan los valores establecidos en la legislación NOM-127-SSA1-1994 (Tabla 1).

Tabla 1. Agroquímicos detectados en el Acuífero Yucateco

Autor	Región	Fuente	Contaminante
Perera-Rios, J., 2022	Ticul, Yucatán	Agua uso domestico	Aldrin ^{*/**} Heptachloro [*] β -BCH ^{**} Malatión Clorpirifós Clorotalonil
Polanco Rodríguez, A. G., 2015	Anillo de Cenotes (Celestún, Dzilam, Kopoma, Chocholá, Izamal, Kinchil, Buctzotz)	Cenotes	Heptacloro [*] Aldrin ^{*/**} Endrina ^{*/**} Dieldrina ^{*/**} DDT ^{*/**} Endosulfan ^{*/**}
Polanco Rodríguez, A. G., 2020	Hopelchen, Campeche	Pozos y dolinas	Endosulfan ^{**} Dieldrina ^{*/**} Heptacloro [*]

*Supera los valores establecidos en la legislación (NOM-127-SSA1-1994) ** Prohibido por la legislación mexicana.

La presencia de agroquímicos en el acuífero kárstico tiene implicaciones graves para la salud de la población y de los ecosistemas costeros, como los manglares. Aunque no se ha reportado la presencia de agroquímicos y sus residuos en sedimentos o agua en la zona costera, Los trabajos de (Alfonso et al., 2017; González Herrera et al., 2018; A. G. Polanco Rodríguez et al., 2015) han señalado la importancia de tomar en consideración los flujos de agua subterráneas que descargan en la zona costera como un factor de transporte de contaminantes. Así mismo, se ha identificado que las actividades humanas que tienen un efecto en la concentración de nutrientes del agua que llega por descargas subterráneas en las lagunas costeras de la zona, teniendo efectos en las comunidades de plancton presente en las costa de la PY, y se ha evaluado que aquellas regiones que tienen una mayor cantidad de actividad humana son la que se encuentran en peores condiciones ambientales (Herrera-Silveira & Morales-Ojeda, s. f.; Marina et al., 2017; Troccoli-Ghinaglia et al., 2010).

Metataxonómica de manglares y detección de xenobióticos

Metataxonómica en manglares y efecto de antrópicos

El ambiente de los manglares ha sido objeto de diversos estudios de metataxonómica. En estos trabajos se ha hecho la caracterización de las comunidades de bacterias, arqueas, y eucariotas. En el caso de las comunidades de bacterias se ha observado que esta comunidad se encuentra dominada por los filos *Pseudomonadota* (*Proteobacteria*); *Firmicutes*; y *Chloroflexi*, donde *Proteobacteria* es considerado el filo principal (Lai et al., 2022; Palit et al., 2022). La caracterización de comunidad bacteriana utilizando la amplificación del gen 16S rRNA han permitido conocer que los manglares cuentan con una comunidad bacteriana compleja y dinámica que responde a factores bióticos y abióticos, así como a las actividades humanas. Las variaciones en la comunidad se han asociado a cambios en el nivel del mar (De Santana et al., 2021); profundidad de sedimento (Jiang et al., 2023; Muwawa et al., 2021); tipos ecológicos de manglar (Gómez-Acata et al., 2023); así como con el estatus de conservación de los manglares, identificando los efectos de contaminantes como metales pesados y desechos urbanos (Basak et al., 2015; Iturbe-Espinoza et al., 2022; X. Zhang et al., 2022).

En el caso de los sitios alterados por el ser humano, la metataxonómica ha permitido reconocer los efectos de los contaminantes en las comunidades de microorganismos (Berg et al., 2020). Esto es importante ya que estas comunidades son el sostén de niveles tróficos superiores además de ser fundamentales en los ciclos biogeoquímicos. Se ha observado que las actividades humanas tienen un impacto en la estructura y función de las comunidades de microorganismos. Liao et al., (2018) observó que las descargas de aguas residuales, el uso de pesticidas y fertilizantes afectaron la distribución de especies de bacterias dominantes; Malla et al., (2022) encontró diferencias en la abundancia relativa de bacterias entre suelos con pesticidas y suelos naturales, así como la presencia de genes de degradación de pesticidas. Y Su, J. (2016) sugiere que la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) pueden alterar a las comunidades de bacterias presentes en los humedales. Lo anterior muestra que la metataxonómica puede ser utilizada como una herramienta de evaluación de los cambios que ocurren en las comunidades bacterianas y servir como un indicador de la presencia de contaminantes, además de ayudar a entender los procesos que son alterados por las actividades humanas.

Metataxonómica de sedimentos de manglares de la PY

En el caso de la PY los trabajos de caracterización de las comunidades microbianas en manglares utilizando *HTS* son escasos. Los trabajos publicados que se han enfocado en la caracterización de las comunidades microbianas utilizando una aproximación metataxonómica, se limitan a los desarrollados por (Gómez-Acata et al., 2023) en sedimentos superficiales a 2 cm de profundidad en diferentes ecotipos de manglar en la zona de Celestún; y (Navarrete-Euan et al., 2021) en sedimentos de 20 cm donde se compraron sitios por su estatus de conservación en El Palmar, Sisal, Progreso y Dzilam de Bravo. En estos trabajos se identificó que los filos más abundantes de bacterias son *Pseudomonadota* (*Proteobacteria*), *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes*, así mismo se ha identificado la presencia de las arqueas *Thaumarchaeota*, *Bathyarchaeota*, *Nanoarchaeota*, *Crenarchaeota* y *Euryarchaeota*. En ambos casos, los grupos encontrados se asociaron a los procesos de ciclado de materia orgánica, así como a los ciclos biogeoquímicos que ocurren en el manglar. El trabajo realizado por Gómez-Acata et al., (2023), se identificó que la comunidad se diferenciaba en sedimentos asociados a mangle blanco (*Avicennia germinans*), mientras que el manglar rojo (*Rhizophora mangle*) fue generalista. Por otra parte, Navarrete-Euan et al., (2021) encontró que a nivel de comunidad existe similitud entre los sitios de Dzilam de Bravo y Progreso, mientras que El Palmar y Sisal fueron más similares entre ellas.

Planteamiento del problema

Las costas de la Península de Yucatán albergan a la mayor parte de los manglares de México representando una gran fuente de servicios ambientales. Este ecosistema se encuentra estrechamente relacionado con los flujos de agua dulce que provienen del acuífero kárstico y que se conducen por el Anillo de Cenotes. En la actualidad se sabe que el agua de este acuífero contiene contaminantes y que estos pueden llegar a las zonas costeras por medio de flujos subterráneos provenientes del arrastre continental. Sin embargo, los efectos de estos contaminantes en las comunidades de bacterias, así como su utilidad como indicadores de contaminación ambiental, son desconocidos ya que son escasos los trabajos que han estudiado a estas comunidades en la región.

Preguntas de investigación

1. ¿Cuál es la estructura y composición de la comunidad microbiana en los sedimentos del Mangle rojo (*Rhizophora mangle*) en las zonas de influencia del anillo de cenotes?
2. ¿Existen diferencias en la estructura y composición de la comunidad microbiana de sedimento de manglar rojo *R.mangle* entre sitios conservados y alterados?
3. ¿Existen diferencias en la estructura y composición de la comunidad microbiana de sedimento de manglar rojo *R.mangle*, a nivel regional?
4. ¿Hay influencia de las descargas de agua del anillo de cenotes en las comunidades bacterianas y sus metabolismos en las zonas de influencia del anillo de cenotes?
5. ¿Hay presencia de rutas metabólicas de degradación de contaminantes relacionados con la actividad humana?

Objetivos

Objetivo general

Caracterizar la comunidad bacteriana e identificar las potenciales rutas metabólicas de degradación de xenobióticos en los sedimentos asociados al manglar rojo (*Rhizophora mangle*), en la zona de influencia del anillo de cenotes dentro de la costa norte de la Península de Yucatán. Para describir sus potenciales usos en la degradación e identificación de contaminantes.

Objetivos particulares

- Caracterizar a la comunidad bacteriana presente en los sedimentos asociados al manglar rojo *R.mangle* en la zona de influencia del anillo de cenotes en la costa norte de la Península de Yucatán.
- Inferir las potenciales rutas metabólicas de biodegradación de xenobiótico en la comunidad bacteriana presente en los sedimentos del manglar rojo *R.mangle*.
- Identificar diferencias en la comunidad microbiana y en los potenciales perfiles funcionales, entre sitios conservados y alterados.
- Describir los potenciales usos de las comunidades microbianas y los perfiles funcionales identificados para la degradación e identificación de contaminantes.

Metodología

Selección del sitio de muestreo

Para localizar los sitios con manglar en la costa del Estado de Yucatán se utilizó como referencia el mapa de uso de suelo y vegetación de la zona costera asociada a manglares, Región Península de Yucatán del año 2020 a escala 1:50,000 obtenido del Geoportal de Geoinformación 2021 del Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB) (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, CONABIO, 2021). A partir de este mapa se identificaron las zonas con presencia de manglares. Para determinar la ubicación del anillo de cenotes se tomaron como referencia las cartas geológicas mineras proporcionadas por el Servicio Geológico Mexicano (SGM), se utilizaron las cartas de Mérida F16-10, Tizimín F-16-7 y Calkiní F15-9-12 a escala 1:250,000. Las cartas se georreferenciaron y se extrajeron los polígonos correspondientes a cuerpos de agua (cenotes) utilizando el programa QGIS 3.24.2 Tisler. Los polígonos correspondientes a cenotes se integraron al mapa de uso de suelo y vegetación de la zona costera asociada a manglares para identificar regiones dentro del anillo de cenotes con presencia de manglares.

A partir de los polígonos correspondientes a cenotes y al mapa de uso de suelo y vegetación de la zona costera asociada a manglares, se identificaron dos regiones donde se intersecta el Anillo de Cenotes y los manglares de la zona costera; Región Dzilam de Bravo al este y la Región El Palmar al oeste del estado. Dentro de cada una de estas regiones, se identificó una zona bajo conservación y una zona alterada. Las zonas conservadas fueron identificadas en base a los polígonos que han sido definidos como Área Natural Protegida (ANP) y que son sujeto de protección ambiental, dentro de estos se buscaron subzonas accesibles en donde el programa de manejo de la ANP prohíbe actividades no sustentables o define actividades de recuperación, Así mismo, se procuró que los sitios conservados estuvieran alejados de los centros de población. En el caso de los sitios alterados, se buscaron sitios fuera de las ANP, cercanos a manglar, y que fueran clasificados como desarrollos antrópicos por la CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, CONABIO, 2021).

Para este trabajo se identificaron la siguientes áreas conservadas y alteradas; en el caso de la Región Dzilam de Bravo se estableció la Reserva Estatal de Dzilam como zona conservada y el Puerto de Dzilam de Bravo como zona alterada, para la Región El Palmar se seleccionó la Reserva Estatal El Palmar como zona conservada y el Puerto de Sisal como zona alterada (Figura 9).

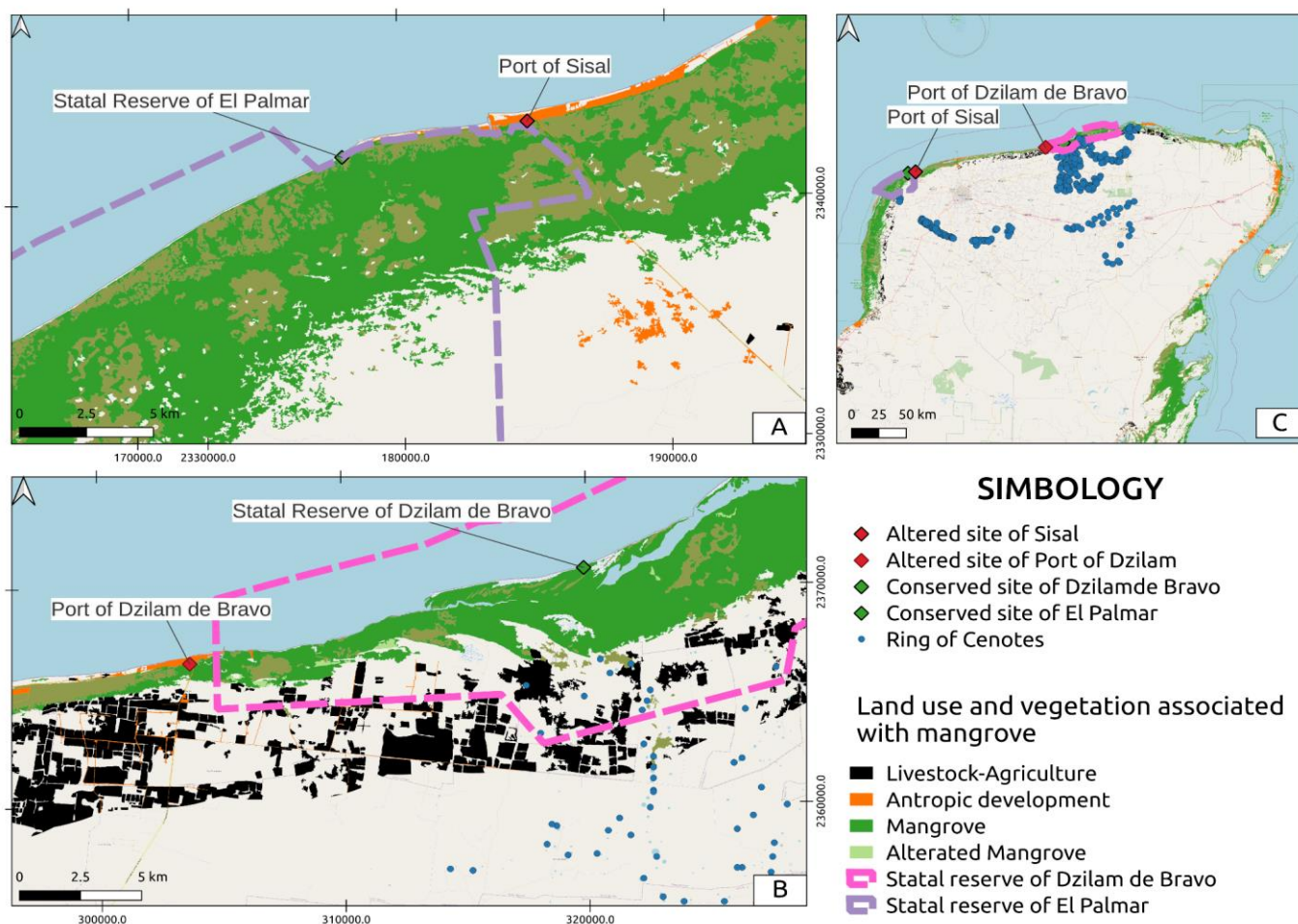


Figura 9. Mapa cartográfico de las diferentes zonas de estudio y uso de suelo relacionado con manglares en la Península de Yucatán 2020. Elaboración propia

Muestreo

Se identificaron cuatro puntos de muestreo, uno para cada una de las zonas identificadas; Reserva Estatal de Dzilam ($21^{\circ}25'49.12''N$, $88^{\circ}44'16.12''O$); Puerto de Dzilam de Bravo ($21^{\circ}23'25.55''N$, $88^{\circ}53'36.20''O$); Reserva Estatal El Palmar ($21^{\circ} 8'57.23''N$, $90^{\circ} 6'5.84''O$) y el Puerto de Sisal ($21^{\circ} 9'46.29''N$, $90^{\circ} 2'6.25''O$) (Tabla 2) (Figura 10). En cada punto de muestreo se identificó un sitio inundado cercano al manglar rojo (*Rhizophora Mangle*) y se estableció un cuadrante de 1m x 1m para el muestreo. Para cada cuadrante tomaron 3 muestras de sedimento; dos de los vértices opuestos del cuadrante y uno del centro del cuadrante nombrando a cada muestra de acuerdo con el sitio de origen (Tabla 2). De cada muestra recolectaron aproximadamente 5 g de sedimento utilizando un tubo de fondo cónico de 50 ml y una espátula estéril. El sedimento recolectado correspondió al que

se encuentra en los primeros 20 cm de profundidad, y se procuró evitar la toma de raíces de manglar. Una vez recolectado el sedimento se mezcló con 6 mL de LifeGuard Soil Preservation buffer (Qiagen Inc., Hilde, Germany) y se almacenó en una hielera a 4°C para ser transportado y fue almacenado a -20 °C para su posterior extracción y secuenciación. El muestreo se realizó en la temporada de nortes entre el 25 y 26 de noviembre del 2021.



Figura 10. Sitios de muestreo a) Sitio alterado de muestreo de Puerto Dzilam de Bravo. b) Sitio conservado Reserva Estatal de El Palmar.

Tabla 2. Clasificación de muestras de acuerdo con la región, sitio y condiciones del muestreo

Sitios	Condición	Región	Clave muestra
Reserva Estatal El Palmar	Conservado	El Palmar (Oeste)	PM14
Reserva Estatal El Palmar	Conservado	El Palmar (Oeste)	PM15
Puerto Sisal	Alterado	El Palmar (Oeste)	SIS24
Puerto Sisal	Alterado	El Palmar (Oeste)	SIS25
Reserva Estatal de Dzilam	Conservado	Dzilam (Este)	DZ14
Reserva Estatal de Dzilam	Conservado	Dzilam (Este)	DZ15
Puerto de Dzilam de Bravo	Alterado	Dzilam (Este)	DZ24
Puerto de Dzilam de Bravo	Alterado	Dzilam (Este)	DZ25

Extracción de DNA y secuenciación

La extracción del DNA y la secuenciación de las muestras se realizó en los laboratorios del Research and Testing Laboratory (Lubbock, TX, USA), siguiendo la metodología detallada por Navarrete-Euan et al., (2021). La extracción del DNA se hizo para ocho de las muestras recolectadas en el campo, dos por punto de muestreo. Esto se realizó utilizando el kit Qiagen MagAttract PowerSoil DNA KF Kit (Qiagen Inc., Hilde, Germany) siguiendo las instrucciones del proveedor. Posteriormente, se verificó la calidad y pureza del DNA, y se realizó la amplificación de las regiones V3-V4 del gen 16s rRNA utilizando los *primers* 357wF (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') y 785R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'). La amplificación, se realizó en reacciones de 25 µL con mezcla maestra Qiagen HotStar Taq (Qiagen Inc., Valencia, CA, EE. UU.), 1 µL de cada primer 5 µM y 1 µL de guía; las reacciones se realizaron en un termociclador ABI Veriti (Applied Biosystems, Carlsbad, California, EE.UU.). Los resultados de la amplificación se combinaron de forma equimolar y se seleccionó el tamaño de cada grupo en dos rondas utilizando el reactivo SPRIselect (Beckman Coulter Inc., Indianápolis, IN, EE. UU.) en una proporción de 0,75 para ambas rondas. Luego, los grupos seleccionados de tamaño se cuantificaron utilizando el fluorómetro Qubit 4 (Life Technologies, Grand Island, NY, EE. UU.) Finalmente, las muestras se cargaron en una celda de flujo Illumina MiSeq (Illumina Inc., San Diego, CA, EE. UU.) 2 × 300 a 10 pM para su secuenciación.

Procesamiento secuencias

El procesamiento de las secuencias del gen 16s rRNA fue realizado con el programa computacional *Quantitative Insights into Microbial Ecology 2 v2022.2* (QIIME 2) (Bolyen et al., 2019). Los datos pareados (paired-end) se importaron a QIIME 2 utilizando el plugin "tools import", con el formato Casava 1.8 paired-end demultiplexed fastq. Las secuencias fueron procesadas mediante el plugin *Divisive Amplicon Denoising Algorithm 2* (DADA2) (Callahan et al., 2016) para filtrar, cortar y eliminar las chimeras. Fueron retiradas aquellas secuencias con un *Phred value* < 30 tanto en las lecturas sentido como anti sentido. Posteriormente, se realizó una clasificación taxonómica utilizando el *plugin* "q2-feature-classifier" con un clasificador Naive-Bayes, el clasificador fue entrenado

utilizando los *primers* específicos para bacterias utilizados para el amplicón del gen 16s rRNA y se tomó como referencia la base de datos SILVA 132 99% 16s (Quast et al., 2012). Finalmente, las *Amplicon Sequence Variants (ASV)* fueron anotadas taxonómicamente utilizando el *plugin* "classify-sklearn" utilizando un valor de confianza de 0.7 (Pedregosa et al., 2011).

Se calcularon los índices de diversidad alfa de Shannon (Shannon *et al* 1949), Simpson (Simpson, E., 1949), Chao1(Chao, A & Lee S., 1992) y equitatividad de Pielou (Pielou, E., 1966), además de la diversidad beta utilizando el *plugin* q2-diversity función core-microbiome-phylogenetic. Así mismo, se obtuvieron los índices de Shannon, Chao1, Simpson y Evenness utilizando la función diversity de la librería Vegan (V.2.6.4) (Oksanen J, 2022) para los ASV anotados a nivel de filo y clase. Para cada índice se probó la normalidad de los datos utilizando la función lillie.test de la librería Nortest (V1.0,4) (Gross J, Ligges U., 2015). Para encontrar diferencias en los índices de diversidad alfa, se realizó una prueba Wilcoxon para datos no normales o una prueba t para datos normales. Para la diversidad beta de filios y clases se agregó un pseudo-count= 0.1 y calculó la matriz de disimilitud robusta de Aitchison utilizando la función vegadist (Martino et al.,2019). Así mismo, se obtuvieron las matrices ponderadas y no ponderadas Unifrac utilizando el *plugin* core-metrics-phylogenetic de QIIME2 (Lozupone., C & Knight,R., *et al* 2005; Chan,Y., *et al* 2004). Para las matrices generadas se realizó un Escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) y se aplicó una PERMANOVA utilizando la función adonis2 del paquete Vegan en R para encontrar diferencias entre variables de estudio en cada nivel taxonómico (Anderson.,2001). Los resultados se graficaron utilizando la librería ggplot2 (V3.4.3) (Wickham,H, 2016).

Core microbiano

Se realizó un código personalizado en R (R Core Team,2021) para obtener aquellos filios que son compartidos en todos los sitios de muestreo y aquellos que son únicos entre regiones y estatus de conservación a partir de datos de presencia y ausencia de los taxones dentro de las muestras. Una vez identificados los taxones únicos por estatus de conservación o región de muestreo se graficaron los grupos utilizando la librería UpsetComplex (Michał Krassowski, 2020; Alexander Lex, 2014).

Predicción de potenciales perfiles funcionales

La predicción de potenciales perfiles funcionales en las muestras de sedimento fue realizada con el programa *Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States version 2* (PICRUSt2) (Douglas et al., 2020), siguiendo el método estándar “PICRUSt2 Tutorial (v2.5.2)”, tomando como referencia los ortólogos (KO) del *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG). Los resultados de PICRUSt2 se agruparon y se identificaron las rutas metabólicas correspondientes a la biodegradación y metabolismos de xenobióticos. Los datos se normalizaron utilizando la función `clr` de la librería `compositions` (V2.0-6) (Van den Boogaart., et al.2023). Posteriormente, se calculó la matriz euclidiana para los datos del `pred_metagenome_unstrat` utilizando la función `vegdist` y se realizó un escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) y se aplicó una PERMANOVA utilizando la función `adonis2` del paquete `Vegan` en R. Adicionalmente, se aplicó un análisis de abundancia diferencial de genes utilizando la librería `ALDEx2` (V.1.32.0) (Fernandez, AD., et al. 2013) utilizando la prueba de Welch’s y Wilcoxon, ajustando los p values con la función de Bejamín-Holchberg para encontrar KOs que son distintos entre sitios conservados y alterados, así como entre regiones de muestreo. Para las rutas de biodegradación y metabolismos de xenobióticos se utilizó una prueba de Wilcoxon para encontrar diferencias entre estatus de conservación y regiones de muestreo. Y se calcularon las matrices robustas de disimilitud de Aitchison y se utilizó un análisis PERMANOVA para encontrar diferencias. Finalmente, se buscaron diferencias por cada ruta de biodegradación utilizando una prueba Wilcox, y se aplicó un análisis de abundancia diferencial de genes utilizando la librería `ALDEx2` (V.1.32.0) (Fernandez., AD., et al. 2013).

Los códigos de procesamiento de datos de QIIME2, PICRUSt2 y R, así como los matices de taxonomía a nivel de Filo y clase, y la matriz `pred_metagenome_unstrat` de PICRUSt2 fueron subidos al github en el siguiente repositorio https://github.com/LAACit/Tesis_Metataxonomica_manglar_yucatan_16sRNA

Resultados

Estructura y composición de la comunidad microbiana

A partir de 8 muestras de sedimento provenientes de los 4 sitios de muestreo, se obtuvieron un total de 796,740 lecturas de la secuenciación por amplicón con Illumina. Después de filtrar con DADA2 se conservaron el 90.8% de las secuencias las cuales corresponden a 2,345 ASV. Las ASV obtenidas se anotaron taxonómicamente en 48 Filos, 99 Clases, 249 Órdenes, 366 Familias, y 445 Géneros. El Filo con mayor abundancia relativa en todas las muestras fue *Chloroflexi* (41.45% - 75.71%), seguido por *Pseudomonadota*, anotada como *Proteobacteria* (1.03% - 35.69%), *Acidobacteria* (4.08% - 13.8%), y la arquea *Nanoarchaeota* (0.66% - 13.56%), mientras que filos con una abundancia relativa menor al 1% correspondieron al 4.14% de total. A nivel de Clases, *Dehaloccocoidia* y *Anaerolineae* del Filo *Chloroflexi* fueron las clases más abundantes en todas las muestras representando un 38.3% y 25.5% respectivamente, a estas le siguieron *Alphaproteobacteria* del filo *Proteobacteria* con un 9.4%, *Aminicenantia* del filo *Acidobacteria* con un 6.59 % y la Arquea *Bathyarchaeia* con 3.40% (Figura 11). Para nivel de orden, se identificaron los taxones *Anaerolineales*, *SRB1031* de la Clase *Anaerolineae* y los órdenes *GIF3*, y *FW22* de la clase *Dehaloccocoidia*, así como dos órdenes no anotados de las arqueas *Woesarchaeia* y *Bathyarchaeia*. Finalmente, a nivel de Familia y Género el número de ASV anotados disminuyó notablemente, pero fue posible identificar a miembros de las familias *Anaerolineaceae* y *AB-539-J10* del filo *Chloroflexi*, mientras que a nivel de género el taxon más abundante corresponde a la familia *Anaerolineaceae* (11.47%), seguido por un miembro no anotado perteneciente a la clase *Dehaloccocoidia* (6.88%) y un género del orden *Aminicenantales* (5.65%), así mismo se identificaron dos géneros de arqueas no anotados pertenecientes a *Woesarchaeia* y *Bathyarchaeia* con abundancias relativas mayores al 1%.

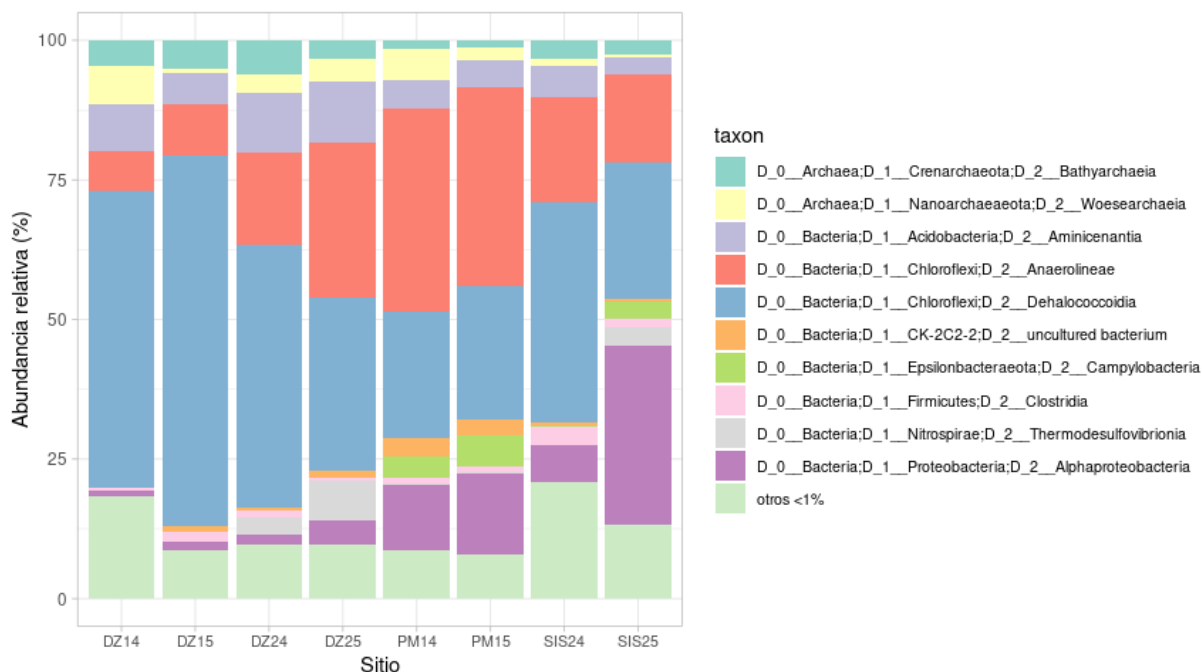


Figura 11. Gráfica de relación de abundancia relativa a nivel de clase para cada muestra tomada en la Península de Yucatán. Muestras DZ14 y DZ15, Reserva Bocas de Dzilam; DZ24 y DZ25, Puerto de Dzilam; SIS24 y SIS25, Puerto de Sisal; PM14 y PM15, Reserva El Palmar.

Se calcularon los índices de Shannon, Simpson, equitatividad de Pielou y Chao1 en QIIME2 con una profundidad de muestreo de 9588, lo que eliminó la muestra SIS24. Los valores de índice de Shannon se encontraron en un rango de 6.12-8.13; para Simpson, variaron entre 0.97 - 0.99; mientras que para los índices de Pielou y Chao1 los valores oscilaron entre los 0.78 - 0.95 y 232-703 respectivamente. Los índices de diversidad indican que la comunidad microbiana en el sedimento de manglar tiene una alta diversidad con una equitatividad elevada. Al comparar los índices de diversidad por región de muestreo se logró identificar que la Región Este presentó los valores medios de Shannon, Simpson y Chao1 más elevados. En esta región también se obtuvo el valor medio más elevado del índice de Pielou. Sin embargo, al comparar los índices de diversidad entre las regiones de muestreo no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$). A su vez, se identificó que los sitios conservados tuvieron los valores medios más elevados para los índices calculados en comparación a los sitios alterados, pero estas diferencias no fueron significativas ($p < 0.05$) (Figura 12). Se calcularon los índices de diversidad alfa utilizando la función Vegan para todas las muestras y tomando como referencia las ASV anotadas a diferentes niveles taxonómicos, pero no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) al comparar regiones de muestreo o sitios por estatus de conservación.

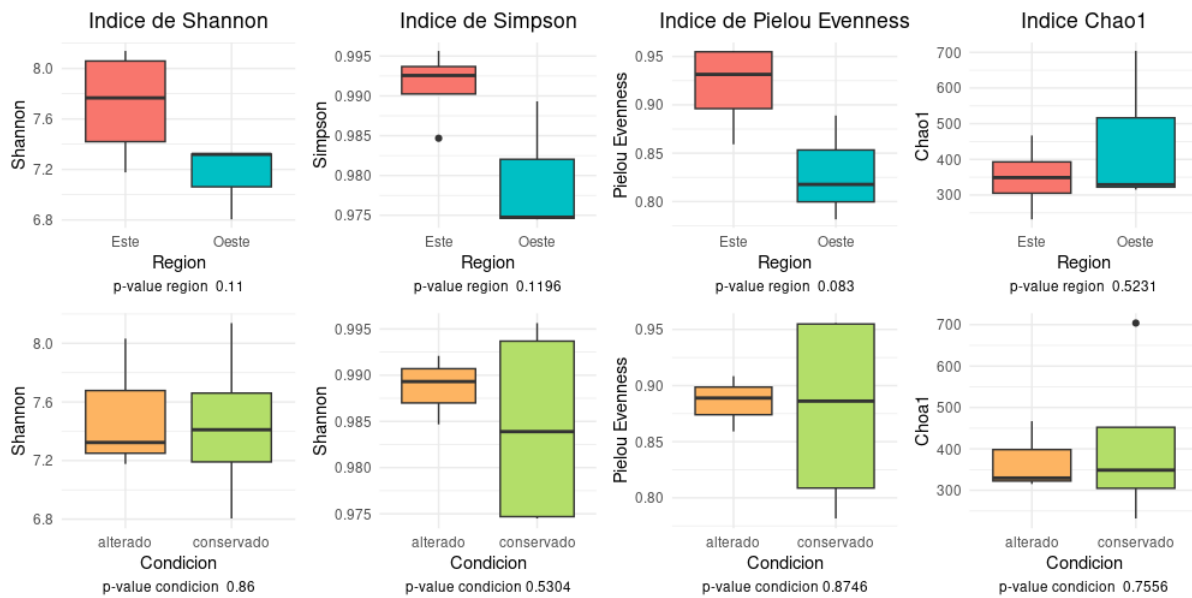


Figura 12. Índices de diversidad alfa obtenidos en QIIME 2 para las regiones de muestreo y sitios por estatus de conservación.

De acuerdo con la matriz no ponderada de Unifrac, que toma en cuenta abundancia relativa, las muestras se agruparon de acuerdo con la región de muestreo, existiendo diferencias significativas entre la Región Este y Región Oeste ($p=0.027$), mientras que la matriz ponderada de Unifrac, que toma en consideración la presencia y ausencia de ASV, mostró una tendencia a la diferenciación por regiones, pero esta no fue significativa ($p=0.061$). Al calcular las matrices ponderada y no ponderada de Unifrac por estatus de conservación, no se encontraron diferencias entre los sitios conservados y alterados (Figura 13). Así mismo, se agruparon las ASV a diferentes niveles taxonómicos y se calculó la matriz de disimilitud de Aitchison, con esto se pudo identificar que las muestras se agrupan de acuerdo con la región de muestreo en los niveles de Filos, Orden, Familia, Género y Especie, mientras que al comparar sitios conservados y alterados no hay diferencias significativas (Anexo 1).

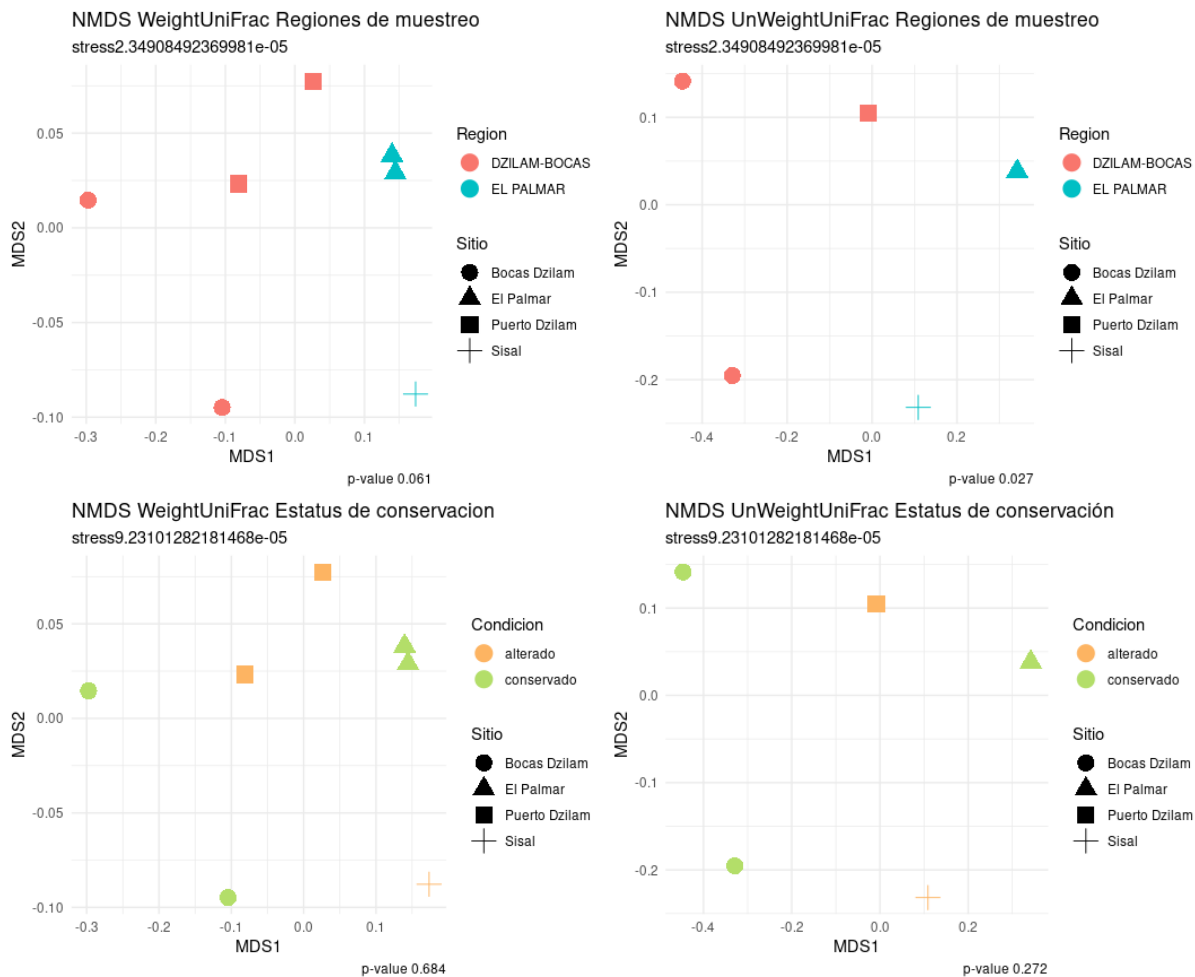


Figura 13. NMDS para matrices de ponderadas y no ponderadas de UniFrac de acuerdo con su estatus de conservación y región de muestreo.

Core microbiano

Se pudo identificar que, de los 48 filios anotados taxonómicamente, sólo 10 se encuentran presentes en todas las muestras. La muestra PM15 fue la que tuvo el mayor número de clases únicas con 9, seguida por la muestra DZ15 con 5, mientras que la muestra PM14 fue la que tuvo el menor número de clases únicas. Entre regiones de muestreo se pudieron identificar 30 filios compartidos entre Región Este y Oeste, mientras que entre los sitios alterados y conservados hay 34 filios compartidos (Figura 14). Al comparar regiones se encontró que la Región Este y Oeste tienen 9 filios que son únicos. Entre los filios únicos correspondientes a la Región Este se encuentra arquea *Thaumarchaeota*, y las bacterias *Armatimonadetes*, *Latescibacteria*; mientras que en la Región Oeste se encuentra la arquea *Halanaerobiaeota*, y las bacterias *Epsilonbacteraeota*, *Gemmatimonadetes*, *Calditrichaeota*. Al

comparar por su estatus de conservación se identificó que los sitios conservados tienen 8 filos únicos, mientras que los sitios alterados tienen 6. En los sitios alterados se identificó la presencia de la arquea *Thaumarchaeota*, así como los filos *Nitrospinae*, *Latescibacteria*, *WPS.2* y *WS4*, mientras que para los sitios conservados se encontraron filos *Hadesarchaeaeota* y las bacterias *Poribacteria*, *Calditrichaeota*, *LCP.89*, *Halanaerobiaeota*.

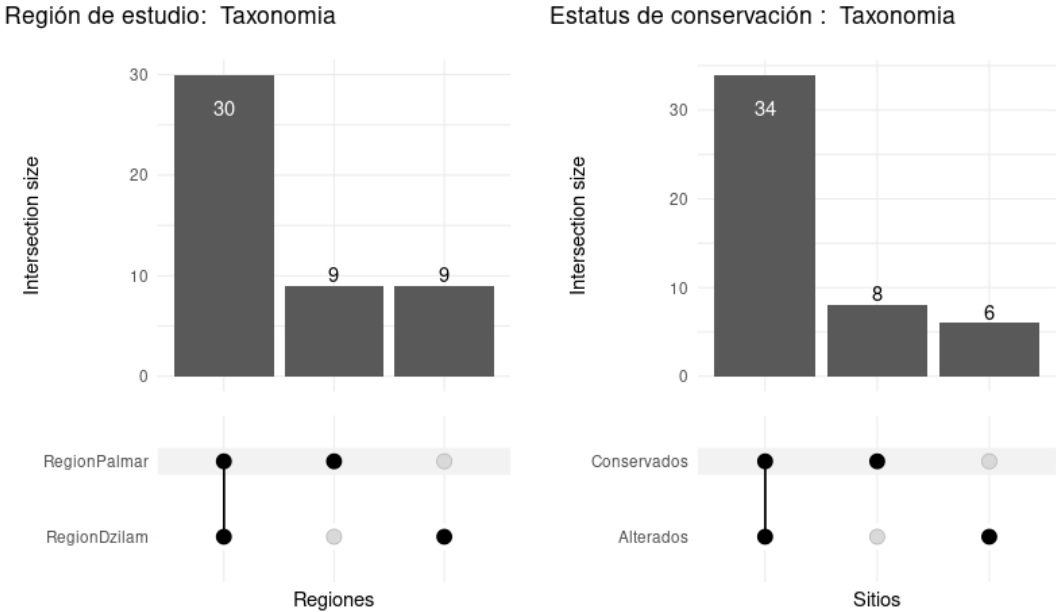


Figura 14. Intersección de filos compartidos y únicos entre regiones de muestreo y estatus de conservación. Los puntos representan los sitios independientes y su número de taxones únicos, los puntos unidos con líneas representan los sitios taxones compartidos

Predicción de potenciales perfiles funcionales

A partir de la predicción funcional realizada en PICRUST2 se lograron obtener 5937 KEGG Ortólogos (KO), estos se pudieron agrupar en 7 grupos principales del KEGG, 29 grupos del subgrupo del KEGG, y 197 rutas. Los KOs más abundantes fueron los relacionados con metabolismos (62.46%) seguido por grupos no identificados (25.57%) y por los procesos de información genética (8.29%). Se identificó que los metabolismos de aminoácidos representan un 24.84% de KO predichos, seguido por los metabolismos de cofactores y proteínas (9.6%); procesos de plegamiento clasificación y degradación (8.19%); y metabolismos y biosíntesis de Glicano (8.17%). Así mismo, se identificó que los metabolismos de biodegradación de Xenobioticos representan un 3.5% mientras que los metabolismos de energía contribuyen con un 1.5%. (Figura 15). A nivel de rutas metabólicas la biosíntesis de valina leucina e isoleucina [Ko00290] fue la ruta más abundante (18.47%), seguida por la síntesis y degradación de cuerpos cetónicos [ko00072] (11.69%), y exportación de proteínas [ko03060], además se identificó dentro de las rutas principales al metabolismo de degradación de Nitrotolueno [ko00633] (3.45%) perteneciente a la biodegradación de xenobióticos (Anexo 4).

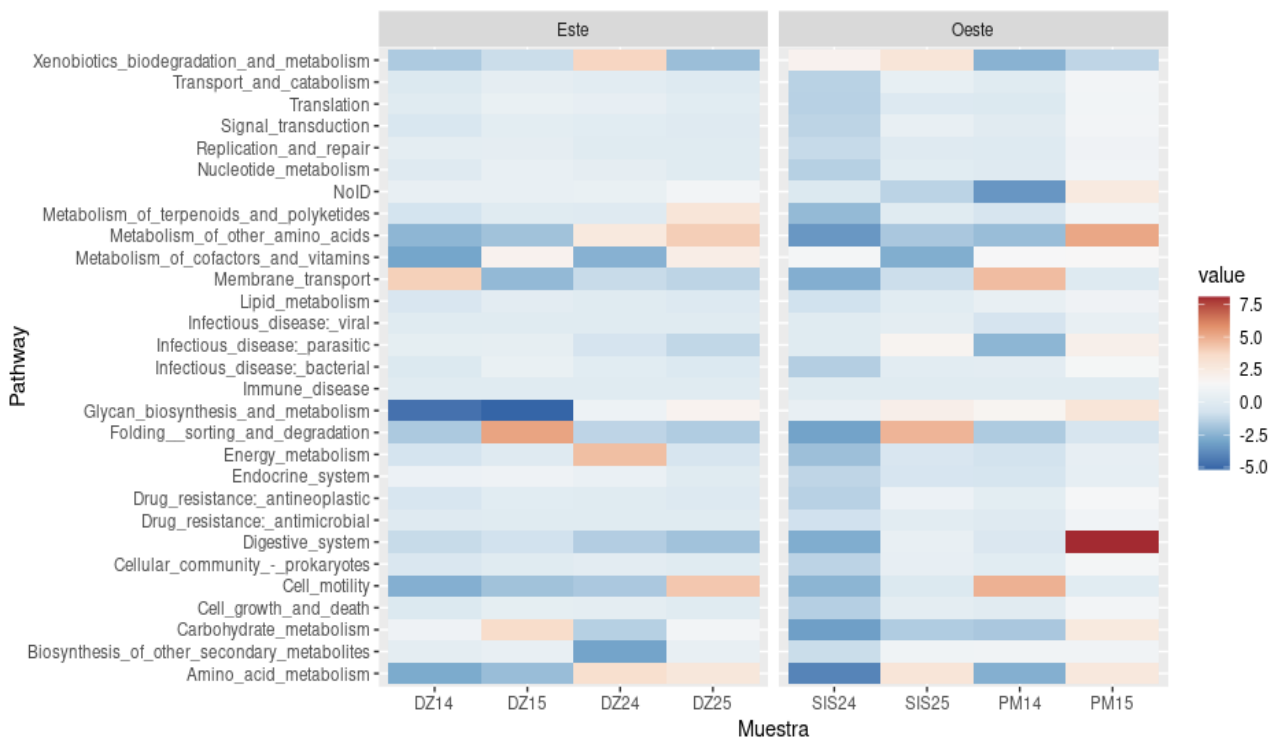


Figura 15. Heatmap nivel 2 de KEGG de predicción de potenciales perfiles funcionales en muestras de sedimento.

Se pudo determinar que los KOs predichos para los sitios de muestreo no se agrupan de acuerdo con el estatus de conservación de la muestra, pero existe un agrupamiento de estos de acuerdo con la región de muestreo diferenciando la región Este y Oeste ($p < 0.05$). Sin embargo, al comparar las rutas metabólicas, grupos o subgrupos del KEGG entre sitios por estatus de conservación o región de muestreo no se encuentran diferencias significativas (Figura 16).

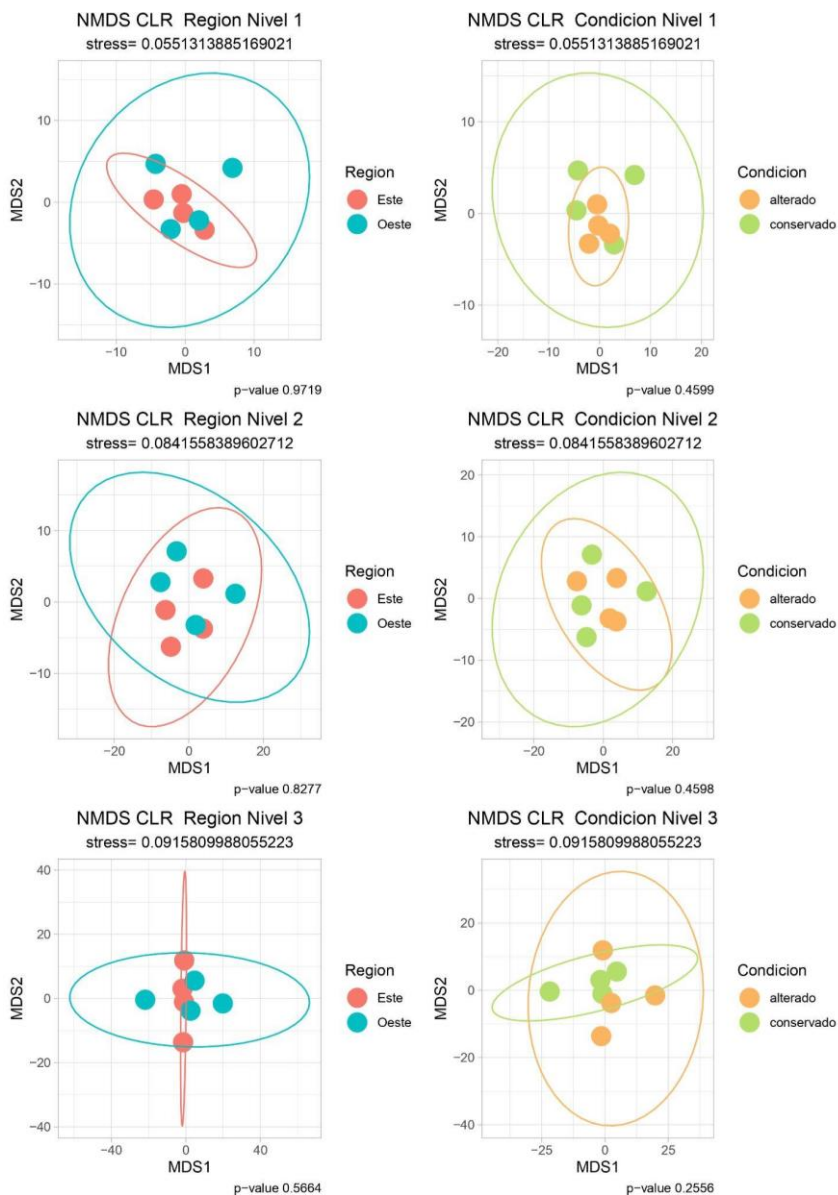


Figura 16. NMDS matriz de euclidiana CLR (Aitchison robusto) de la matriz Pred_metagenome_unstrat para regiones de muestreo y estatus de conservación.

Análisis de expresión diferencial Ortólogos del KEGG (KO)

Al aplicar análisis de abundancia diferencial con ALDEx2 se encontró que hay 1195 KOs que difieren al comparar la Región Este y Región Oeste antes de tomar en consideración los valores de la prueba de Welch corregidos con el método de Benjamini-Hochberg (BH). Al aplicar la corrección BH se conservaron 184 Kos con una tendencia a la diferenciación regional ($p < 0.05$) (Figura 17), mientras que en el caso de la comparación por estatus de conservación sólo se registraron 32 Kos que varían antes del ajuste de BH pero estos no presentaron tendencias a la diferenciación al realizar el ajuste BH.

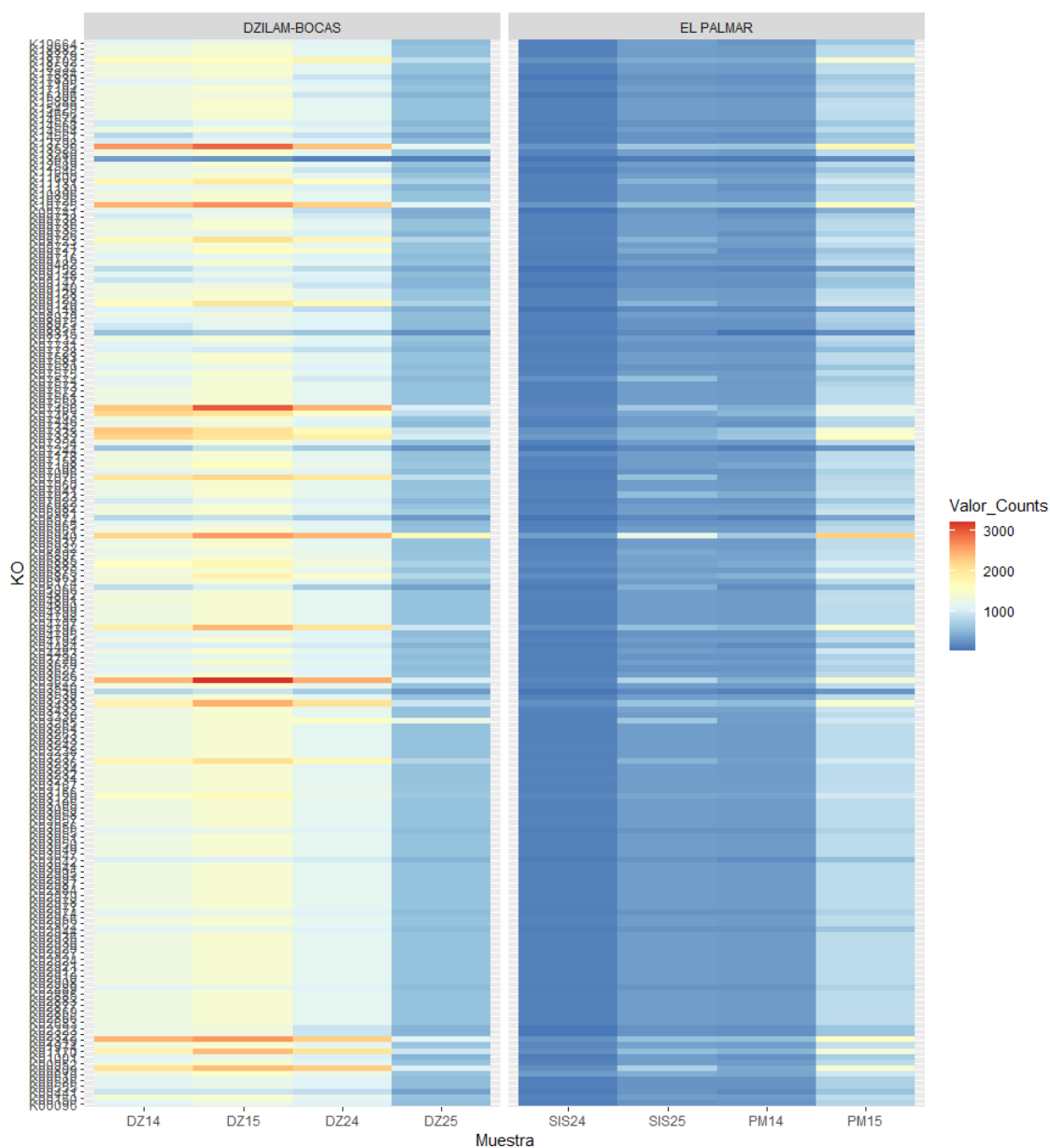


Figura 17. Número de lecturas de potenciales KOs con tendencias a la diferenciación entre regiones de muestreo ($p < 0.06$).

Los Kos identificados con diferencias regionales se encuentran distribuidos en 89 rutas. De estas, las que contienen la mayor cantidad de *hits* son Ribosome [Ko 01110] con 7 KOs, seguida por las rutas metabólicas [Ko 01100] con 20 KOs, biosíntesis de metabolitos secundarios [Ko 01110] con 11 KOs y la replicación de DNA [Ko 03030] con 11 KOs. En general los KOs que varían entre regiones se encuentran presentes con mayor abundancia en la Región Este.

Rutas de biodegradación de xenobióticos

Se pudo identificar que los metabolismos de biodegradación de xenobióticos representan un 4.8% de las rutas potenciales predichas abarcando 15 de las 21 rutas de biodegradación registradas en KEGG. Las rutas más abundantes corresponden a la degradación de Esteroides y la Ruta de degradación de Nitrotolueno. Así mismo, se predijo la presencia de rutas de biodegradación de compuestos clorados como los cicloclorohexanos, clorobenzenos cloroalquenos y cloroalcanos, además de compuestos altamente dañinos para el medio ambiente como la Dioxinas (Figura 18). Al comparar la matriz de rutas de biodegradación de xenobióticos entre regiones de muestreo y estatus de conservación no se encontraron diferencias significativas en ningún supuesto ($p > 0.05$). Así mismo, al utilizar las pruebas Wilcox para cada una de las rutas no se encontraron diferencias significativas por estatus de conservación y al comparar regiones de muestreo se encontró una tendencia a la diferenciación en la ruta de degradación de cicloclorohexanos y clorobenzenos pero esta no fue significativa ($p = 0.0571$). Finalmente, al aplicar la función ALDEx2 a las rutas de biodegradación no se encontraron diferencias significativas entre estatus de conservación o región de muestreo.

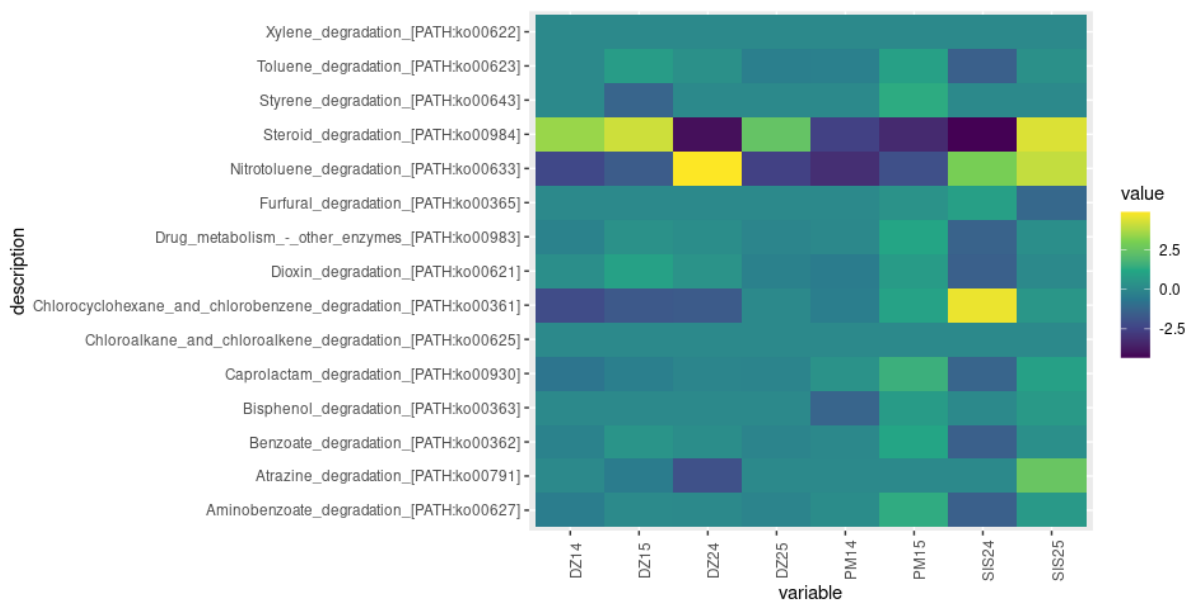


Figura 18. Abundancia normalizada de las Rutas de biodegradación y metabolismos de Xenobióticos predichas por PICRUST2.

Discusión

La Península de Yucatán cuenta con una configuración ambiental única, siendo hogar de la mayor extensión de manglares de México. Sin embargo, el desarrollo de las actividades humanas ha llevado al deterioro de este ecosistema teniendo impactos desconocidos en las comunidades de microorganismos. En este trabajo se estudió la composición y estructura de las bacterias presentes en el sedimento circundante al manglar rojo (*Rhizophora Mangle*) en sitios considerados conservados y alterados, y se determinó el potencial de esta comunidad para la degradación de xenobióticos. Para esto se secuenciaron las regiones V3 y V4 del gen 16s rRNA y se utilizaron herramientas bioinformáticas para la anotación taxonómica y predicción de potenciales funciones metabólicas.

La composición de la comunidad microbiana en los sedimentos asociados a *R. mangle* en nuestros sitios de estudio es similar a la reportada en la literatura, pero existen diferencias en su estructura. En nuestro trabajo se identificó que las clases más abundantes de bacterias son *Dehalococcoidia* y *Anaerolineae* del filo *Chloroflexi*; *Alphaproteobacteria* del filo *Proteobacteria*; y *Aminicenntia* del filo *Acidobacteria*, así como las arqueas *Bathyarchaeia* y *Woesearchaeia* pertenecientes al filo *Nanoarchaeota*. Estas clases han sido reportadas en sedimentos asociados a manglar alrededor del mundo (Ceccon et al., 2019; Palit et al., 2022; Wu et al., 2022) y en manglares de la PY (Gómez-Acata et al., 2023; Navarrete-Euan et al., 2021). Sin embargo, la dominancia del filo *Chloroflexi* y su clase *Dehalococcoidia* difiere de lo reportado tradicionalmente para manglares. Diversos trabajos señalan la presencia de *Chloroflexi* en el sedimento de manglar (Behera et al., 2019; Gómez-Acata et al., 2023; Haldar & Nazareth, 2018; Muwawa et al., 2021), no obstante, se considera que *Proteobacteria* es el filo principal en los sedimentos de manglar (Palit et al., 2022). Lo anterior ha sido observado en manglares considerados prístinos (Ceccon et al., 2019; Zhou et al., 2017) y en aquellos alterados por las actividades humanas (Gong et al., 2019; Ma et al., 2020; Meng et al., 2021). Hasta el día de hoy sólo se han reportado dos sitios donde no domina *Proteobacteria*; en manglares prístinos en Brasil (De Santana et al., 2021), donde se encontró que el filo *Firmicutes* fue dominante; y el caso de Navarrete-Euan et al (2021), donde *Chloroflexi* es el filo dominante en manglares en la Península de Yucatán.

La dominancia de *Chloroflexi* y su clase *Dehalococcoidia* en nuestros sitios se puede relacionar con la profundidad de la toma de muestra, las características del sedimento, y la hidrología de la región. Se ha registrado que la abundancia del filo *Chloroflexi* incrementa es mayor al aumentar la profundidad

(He et al., 2023). Esto ha sido observado en sedimentos de manglar donde la clase *Dehalococcoidia* de este filo tiene mayor abundancia al incrementar la profundidad (Meng et al., 2021; Romano et al., 2021; Zhou et al., 2017). Este patrón se puede relacionar con las variaciones en las propiedades fisicoquímicas que existen a lo largo de la columna sedimento (Pérez et al., 2021; Ruiz-Fernández et al., 2018; Sakho et al., 2015), las cuales pueden llevar a cambios en la comunidad microbiana (Jiang et al., 2023; Muwawa et al., 2021). En nuestro caso, hay una alta probabilidad que a la profundidad de muestreo existieran condiciones anoxigénicas las cuales promovieron el desarrollo a *Dehalococcoidia* y *Anaerolineae*, ya que los miembros de estas clases se desarrollan en ambientes estrictamente anaerobios (Thiel et al., 2019). La presencia de condiciones anoxigénicas en el sedimento recolectado también podría explicar la presencia de la arquea *Bathymarchaeota*, ya se ha reportado que este grupo es anaerobio, además de que incrementa su abundancia al aumentar la profundidad (Romano et al., 2021; Zhou et al., 2017). Sin embargo, la profundidad de muestreo por sí sola no explica la abundancia elevada de los miembros de estos filos, ya que otros trabajos realizados en manglares a profundidades de entre 10 cm y 30 cm no han reportado abundancias elevadas de estos grupos (Gong et al., 2019; Muwawa et al., 2021; Z.-F. Zhang et al., 2023).

La constitución de materia orgánica y la presencia de contaminantes organoclorados en el sedimento recolectado pueden contribuir a la dominancia de *Chloroflexi*. Se ha observado que el filo *Chloroflexi* es abundante en sedimentos anoxigénicos ricos en materia orgánica (Inagaki et al., 2006). Además, se ha reportado que *Dehalococcoidia* incrementa su abundancia con tratamientos de lignina (Yu et al., 2023), este enriquecimiento también ha sido reportado para los miembros de la clase *Bathymarchaeota* (Yu et al., 2018). La presencia de lignina y sus compuestos derivados en el sedimento de manglar se relacionan directamente con la presencia de este compuesto en la madera y hojas de los manglares (Kristensen et al., 2008; Kumar et al., 2019; Marchand et al., 2008). En nuestro caso es posible que la capa de sedimento recolectada estuviera constituida principalmente restos de madera y hojas, proporcionando lignina y sus derivados que fueron aprovechados por *Dehalococcoidia* y *Bathymarchaeota* enriqueciendo a estos grupos. Lo anterior se podría ver reflejado en las predicciones funcionales realizadas en PICRUSt2, donde se identificó que *Dehalococcoidia* tiene un potencial importante de degradación benzoatos, esto es similar a lo reportado por Yu, T., et al (2023) donde lograron ensamblar 6 MAGS pertenecientes a esta clase los cuales contenía una vía de degradación del benzoato casi completa para la oxidación anaeróbica de benzoato a acetil coenzima A. La identificación del potencial de degradación de compuestos orgánicos provenientes de los restos del manglar se relaciona estrechamente con la captura de carbono que se ocurre en el manglar acentuando la importancia de *Dehalococcoidia* en los ciclos biogeoquímicos.

Además de la presencia y degradación de restos de manglar, la presencia de compuestos organoclorados de origen humano depositados en el sedimento podría estar promoviendo a los miembros de la clase *Dehaloccocoidia*. La presencia de agroquímicos en el acuífero de la Península de Yucatán se ha asociado con las actividades agropecuarias que se llevan a cabo en la región. Compuestos como el endosulfán, lindano, aldrin, DDT, dieldrina y beta-HCH se han identificado en región del Anillo de Cenotes (Perera-Rios et al., 2021; A. G. Polanco Rodríguez et al., 2015). La descarga de estos contaminantes en la zona costera afectando a los manglares se podría esperar debido a las descargas de aguas que se dan por el Anillo de Cenotes. La presencia de compuestos organoclorados como el HCH, aldrín, dieldrina podrían promover el desarrollo de miembros de *Dehaloccocoidia* ya que se ha observado enriquecimiento y actividad de deshalogenación en miembros aislados de esta clase (Lee et al., 2022; Thiel et al., 2019). Este potencial de degradación de agroquímicos organoclorados podría verse reflejado en las predicciones funcionales de PICRUST2 donde se identificó la presencia de las rutas de biodegradación de cicloclorohexanos y clorobencenos [ko 00361]; cloroalcanos y cloroalquenos [ko 00625] donde la ruta ko 00361 se puede relacionar directamente con la degradación de Lindano y sus derivados como el *beta*-BHC. Así mismo, la disposición de zonas de agricultura y ganadería principalmente en la zona Este del estado podría explicar la abundancia diferencial de *Dehaloccocoidia*, ya que esta clase tiene mayor abundancia en la zona Este. Es probable que esta clase esté respondiendo a una mayor descarga de agroquímicos provenientes de las zonas agrícolas y pecuarias localizadas detrás de la Reserva Estatal de Dzilam de Bravo, esto es similar a lo reportado por (Guillén-Chable et al., 2022) donde se asoció la presencia de genes de resistencia a antibióticos con la presencia de sitios con actividades agropecuarias en las proximidades de la Reserva Estatal de Dzilam de Bravo. La presencia de miembros de la clase *Dehaloccocoidia* así como la predicción de potenciales rutas de degradación de agroquímicos en el sedimento de manglar pueden indicar la presencia de estos contaminantes en los manglares lo que puede tener efectos en la salud del ecosistema. Sin embargo, esto también abre la puerta al desarrollo de estrategias biotecnológicas innovadoras que aprovechen este potencial para la descontaminación del sedimento de manglar.

La hidrología regional y el hidroperiodo pueden afectar la composición de la comunidad microbiana en el sedimento del manglar. Las variaciones en el hidroperiodo en el sitio de estudio pueden contribuir a la generación de condiciones anaeróbicas en el sedimento ya que el incremento en los niveles de inundación puede fungir como una capa extra de sedimento sobre el nivel del suelo real. Lo anterior puede promover el desarrollo de microorganismos anaerobios como los miembros del filo

Chloroflexi y grupos de Arqueas en niveles más superficiales ocupados normalmente por taxones aerobios. Así mismo, la comunicación entre el Anillo de Cenotes y los manglares que se ha identificado principalmente con el flujo subterráneo y descarga de agua dulce puede tener efectos aún no descritos en la comunidad microbiana presente en los manglares. En la literatura se han reportado el hallazgo de miembros del filo *Chloroflexi* en sedimentos y agua dentro del acuífero Kárstico de la PY. En el caso del trabajo de (Suárez-Moo et al., 2022) se identificó que el filo *Chloroflexi* es dominante en un cenote de la zona costera de la PY. Así mismo, Osburn, M., et al (2023) encontró a miembros de este filo en sistemas de cavernas de los sistemas Xunna Ha, Sac Actun y Ox Bel Ha en la costa de Quintana Roo. Estos hallazgos y nuestros resultados podrían relacionarse con la presencia de agroquímicos en el acuífero que han sido descritos por (A. G. Polanco Rodríguez et al., 2015; Polanco-Rodríguez et al., 2020; Rodríguez et al., 2018). Así mismo, se propone que los flujos y descargas subterráneas conducidas por el Anillo de Cenotes lleven a un intercambio o comunicación entre comunidades microbianas del acuífero de la PY y las presentes en los ecosistemas costeros relacionados a las descargas de agua dulce del Anillo de Cenotes, relación que podría variar dentro de la misma región.

Las descargas del Anillo de Cenotes pueden explicar la tendencia de diferenciación de las muestras por las regiones (Este-Oeste) en la comunidad. Los cambios asociados con la distancia geográfica han sido observados en comunidades microbianas de manglares en otras regiones del mundo, estas diferencias se han asociado con las condiciones ambientales, interacciones ecológicas o desastres ambientales pasados (Gong et al., 2019; Puthusseri et al., 2021). En el caso de la PY la geohidrología juega un papel fundamental en el desarrollo de manglares, diferenciando escenarios secos; en Sisal y escenarios húmedos en Dzilam, donde el Anillo de Cenotes es el principal factor que contribuye a esta distinción (Zaldívar Jiménez et al., 2010). En el caso del microbioma de manglares de la PY, no se han descrito explícitamente estas diferencias. Sin embargo, patrones similares de diferenciación regional fueron reportados por (Navarrete-Euan et al., 2021). En nuestro caso, las diferencias observadas en la comunidad se siguen esta diferenciación regional, esto puede ser resultado de los procesos de descarga de agua que son dominados por el Anillo de Cenotes y así como a la descarga de diferentes nutrientes y contaminantes que se pueden distinguir entre las dos regiones por sus actividades económicas y características ambientales. Lo anterior sería similar a lo observado en las comunidades de fitoplancton de la costa de la PY, en donde existe una dominancia de diatomeas en la zona de Dzilam, mientras que en la zona de Progreso prevalecen los dinoflagelados, y donde las descargas del Anillo de Cenotes y las actividades humanas son las responsables de esta diferenciación (Álvarez-Góngora & Herrera-Silveira, 2006; Marina et al., 2017; Troccoli-Ghinaglia et al., 2010). Las observaciones realizadas en este trabajo, así como lo reportado en la literatura refuerzan la idea de la

relación estrecha que puede existir entre el Anillo de Cenotes, la hidrología y la comunidad de microorganismos presente en los manglares del PY.

Conclusiones

Se logró caracterizar a la comunidad microbiana en muestras de sedimento asociado a manglar rojo (*R. mangle*). Nuestros resultados mostraron que la comunidad presente en los sedimentos recolectados se encuentra constituida principalmente por bacterias de los filos *Chloroflexi*, *Proteobacteria* y *Acidobacteria*, así como miembros del dominio arquea pertenecientes al filo *Nanoarcheota* teniendo una composición y estructura similar a la reportada en la literatura.

Se observó que el filo *Chloroflexi* y la *Dehalococcoidia* son dominantes en el sedimento en todos los sitios de muestreo. Lo anterior se pudo asociar a las características del sedimento muestreado, donde la profundidad de colecta de sedimentos, así como la presencia de lignina y compuestos organoclorados de origen humano pudieron enriquecer a estos grupos.

Se observó que las comunidades microbianas y los potenciales perfiles funcionales se diferencian a nivel regional y no por estatus de conservación. Lo anterior, indica que existe una posible relación entre las descargas de agua del Anillo de Cenotes y las comunidades microbianas en los manglares, donde la hidrología regional, las descargas de nutrientes y contaminantes conducidas por el Anillo de Cenotes pueden modificar a la comunidad microbiana y sus metabolismos potenciales.

Se identificó un potencial biotecnológico no explorado en los sedimentos de manglar para la degradación de agroquímicos. La presencia de miembros clase *Dehalococcoidia* y la predicción de rutas de biodegradación xenobióticos abre la puerta al desarrollo de herramientas que ayuden a la detección y degradación de agroquímicos organoclorados usados en la industria agropecuaria en el Estado de Yucatán y que han sido identificados en el acuífero de la región.

Perspectivas

Los manglares son un ecosistema costero que proveen una gran variedad de servicios ecosistémicos que ayudan a sostener a las comunidades humanas de la zona costera y con el clima mundial capturando carbono. En este trabajo se encontraron filos de bacterias relacionados con los ciclos biogeoquímicos, así como grupos con potencial para la degradación de compuestos organoclorados de origen humano. Los resultados de este trabajo ponen de manifiesto el papel de los microorganismos en la captura y emisión de gases de efecto invernadero, así como la degradación de contaminantes en los manglares.

La identificación y abundancia de los miembros *Chloroflexi* en este trabajo difiere ligeramente de lo reportado en la literatura. Esta particularidad debe ser investigada con mayor detalle realizando nuevas investigaciones en la región. Los trabajos que se lleven a cabo en un futuro deben tomar en consideración las características y variaciones del ecosistema, y las interacciones regionales, además se deben mejorar las técnicas de recolección de sedimento. Se sugiere tomar en consideración el hidroperiodo, microtopografía, pH, potencial RedOx y temperatura del agua superficial e intersticial en los puntos de muestreo. Así mismo, se pueden realizar mejoras en la recolecta de sedimento, esto se puede lograr utilizando nucleadores que permitan conservar intacta la columna de sedimento, así como realizar muestreos con mayor número de replicas. Con lo anterior, se podría dar una mejor explicación a los patrones observados y encontrar nuevas relaciones a nivel espacial y temporal.

Por otra parte, la identificación de bacterias y arqueas con un potencial funcional para la degradación de contaminantes y con participación en los ciclos biogeoquímicos debe ser estudiado con mayor detalle. Además de realizar un muestreo más extensivo utilizando el gen 16s rRNA, se deben comenzar a utilizar herramientas que proporcionen más información funcional. En este sentido, la integración de secuenciación tipo *shotgun* o metatranscriptómica a estudios de tipo ecológico y de prospección biotecnológica son un paso necesario para poder entender a detalle los procesos que ocurren en el manglar. El incremento de muestreos y el uso de nuevas herramientas, junto con una adecuada caracterización ambiental, es el primer paso para el desarrollo de nuevos productos que ayuden a resolver problemas globales y locales como contaminación de suelo y agua, resistencia a antibióticos, y restauración de manglares degradados.

Referencias

- Acosta Velázquez, J., Cerdeira Estrada, S., Cruz López, M. I., Díaz Gallegos, J., Galindo Leal, C., Jiménez Rosenberg, R., Márquez Mendoza, J. D., Ressler, R., Rodríguez Zúñiga, M. T., Troche Souza, C., Uribe Martínez, A., Valderrama Landeros, L., Vázquez Balderas, B., Vázquez Lule, A. D., & Velázquez Salazar, S. (2013). *Manglares de México: Extensión, distribución y monitoreo*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO).
- Aguilar, Y., Bautista, F., Mendoza, M., Frausto, O., & Ihl, T. (2016). Density of karst depressions in Yucatán state, Mexico. *Journal of Cave and Karst Studies*, 78(2), 51-60. <https://doi.org/10.4311/2015ES0124>
- Alexander Lex, Nils Gehlenborg, Hendrik Strobel, Romain Vuillemot, Hanspeter Pfister (2014). UpSet: Visualization of Intersecting Sets, *IEEE Transactions on Visualization and Computer Graphics (InfoVis '14)*, vol. 20, no. 12, pp. 1983–1992.
- Alfonso, L.-F., Germán, G. V., María del Carmen, P. C., & Hossein, G. (2017). Adsorption of organophosphorus pesticides in tropical soils: The case of karst landscape of northwestern Yucatan. *Chemosphere*, 166, 292-299. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.109>
- Allali, I., Arnold, J. W., Roach, J., Cadenas, M. B., Butz, N., Hassan, H. M., Koci, M., Ballou, A., Mendoza, M., Ali, R., & Azcarate-Peril, M. A. (2017). A comparison of sequencing platforms and bioinformatics pipelines for compositional analysis of the gut microbiome. *BMC Microbiology*, 17(1), 194. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1101-8>
- Álvarez-Góngora, C., & Herrera-Silveira, J. A. (2006). Variations of phytoplankton community structure related to water quality trends in a tropical karstic coastal zone. *Marine Pollution Bulletin*, 52(1), 48-60. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.08.006>
- Anderson, M.J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26: 32–46.
- Basak, P., Majumder, N. S., Nag, S., Bhattacharyya, A., Roy, D., Chakraborty, A., SenGupta, S., Roy, A., Mukherjee, A., Pattanayak, R., Ghosh, A., Chattopadhyay, D., & Bhattacharyya, M. (2015). Spatiotemporal Analysis of Bacterial Diversity in Sediments of Sundarbans Using Parallel 16S rRNA Gene Tag Sequencing. *Microbial Ecology*, 69(3), 500-511. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0498-y>
- Bauer-Gottwein, P., Gondwe, B. R. N., Charvet, G., Marín, L. E., Rebolledo-Vieyra, M., & Merediz-Alonso, G. (2011). Review: The Yucatán Peninsula karst aquifer, Mexico.

Hydrogeology Journal, 19(3), 507-524. <https://doi.org/10.1007/s10040-010-0699-5>

- Beddows, P., Blanchon, P., Escobar, E., & Torres-Talamante, O. (2007). *Los cenotes de la península de Yucatán*.
- Behera, P., Mohapatra, M., Kim, J. Y., Adhya, T. K., Pattnaik, A. K., & Rastogi, G. (2019). Spatial and temporal heterogeneity in the structure and function of sediment bacterial communities of a tropical mangrove forest. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(4), 3893-3908. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3927-5>
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M.-C. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., ... Schloter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: Old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- Bertrand, J.-C., Caumette, P., Lebaron, P., Matheron, R., Normand, P., Télesphore, ., & Editors, S.-N. (2015). *Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications*.
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., Chase, J., ... Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, 37(8), 852-857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Cavalier-Smith, T., Brasier, M., & Embley, T. M. (2006). Introduction: How and when did microbes change the world? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 361(1470), 845-850. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1847>
- Ceccon, D. M., Faoro, H., Lana, P. D. C., Souza, E. M. D., & Pedrosa, F. D. O. (2019). Metataxonomic and metagenomic analysis of mangrove microbiomes reveals community patterns driven by salinity and pH gradients in Paranaguá Bay, Brazil. *Science of The Total Environment*, 694, 133609. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133609>
- Chan, Y., Ching, W.K., Ng, M.K., Huang, J.Z. (2004). "An optimization algorithm for clustering using weighted dissimilarity measures". *Pattern Recognition*. 37(5): 943-952.
- Chao, A. and Lee, S.M.. (1992). "Estimating the number of classes via sample coverage". *Journal of the American Statistical Association*. (87): 210-217.

- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2022). *Programa Hídrico Regional 2021-2024 Región Hidrológico-Administrativa XII Península de Yucatán*.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2023). *Actualización de la disponibilidad media anual de agua en el acuífero Península de Yucatán (3105), Estado de Yucatán*.
- Connors, M., Hildebrand, A. R., Pilkington, M., Ortiz-Aleman, C., Chavez, R. E., Urrutia-Fucugauchi, J., Graniel-Castro, E., Camara-Zi, A., Vasquez, J., & Halpenny, J. F. (1996). Yucatán karst features and the size of Chicxulub crater. *Geophysical Journal International*, 127(3), F11-F14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-246X.1996.tb04066.x>
- da Cunha, M. de L. R. de S. (2019). Molecular Biology in Microbiological Analysis☆. En *Reference Module in Food Science*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22935-1>
- De Santana, C. O., Spealman, P., Melo, V. M. M., Gresham, D., De Jesus, T. B., & Chinalia, F. A. (2021). Effects of tidal influence on the structure and function of prokaryotic communities in the sediments of a pristine Brazilian mangrove. *Biogeosciences*, 18(7), 2259-2273. <https://doi.org/10.5194/bg-18-2259-2021>
- Djemiel, C., Maron, P.-A., Terrat, S., Dequiedt, S., Cottin, A., & Ranjard, L. (2022). Inferring microbiota functions from taxonomic genes: A review. *GigaScience*, 11, giab090. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab090>
- Douglas, G. M., Maffei, V. J., Zaneveld, J. R., Yurgel, S. N., Brown, J. R., Taylor, C. M., Huttenhower, C., & Langille, M. G. I. (2020). PICRUSt2 for prediction of metagenome functions. *Nature Biotechnology*, 38(6), 685-688. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0548-6>
- Escobar-Sánchez, J. E. (2005). *Caracterización petrológica y geoquímica de la secuencia carbonatada sobreyacente a la brecha de impacto en el pozo unam-5, cráter chicxulub* [Doctorado]. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Escolero, O. A., Marin, L. E., Steinich, B., & Pacheco, J. (2000). Delimitation of a hydrogeological reserve for a city within a karstic aquifer: The Merida, Yucatan example. *Landscape and Urban Planning*, 51(1), 53-62. [https://doi.org/10.1016/S0169-2046\(00\)00096-7](https://doi.org/10.1016/S0169-2046(00)00096-7)
- Espinasa-Pereña, R. (1990). El karst de México (na iii 3). En A. Coll-Hurtado (Ed.), *Nuevo atlas nacional de México*.
- Estrada-Medina, H., Jiménez-Osornio, J. J., Álvarez-Rivera, O., & Barrientos-Medina, R. C. (2019). El karst de Yucatán: Su origen, morfología y biología. En *Acta Universitaria* (Vol. 29, p. 2292). <http://doi.org/10.15174.au.2019.2292>

- FAO. (2023). *The world's mangroves 2000–2020*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cc7044en>
- Fernandes, AD, Macklaim, JM, Linn, TG, Reid, G, Gloor, GB. (2013). “*** ANOVA-Like Differential Gene Expression Analysis of Single-Organism and Meta-RNA-Seq.” *** PLoS ONE, 2013, volume 8, issue 7e67019_<***%20http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0067019>.
- Ford, D., & Williams, P. W. (2007). *Karst hydrogeology and geomorphology* (Rev. ed.). John Wiley & Sons.
- Frumkin, A. (2013). 6.1 New Developments of Karst Geomorphology Concepts. En *Treatise on Geomorphology* (pp. 1-13). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374739-6.00112-3>
- Gaiero, J. R., Tosi, M., Bent, E., Boitt, G., Khosla, K., Turner, B. L., Richardson, A. E., Condron, L. M., & Dunfield, K. E. (2021). Soil microbial communities influencing organic phosphorus mineralization in a coastal dune chronosequence in New Zealand. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(4), fiab034. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab034>
- García, G., Eduardo, G. /, & Castro, G. (2010). *EL ESTADO 4 Geología*.
- Gijon-Yescas, N. (2007). *Análisis espacial de la vulnerabilidad a la contaminación en el Estado de Yucatán*. UADY.
- Gómez-Acata, E. S., Teutli, C., Falcón, L. I., García-Maldonado, J. Q., Prieto-Davó, A., Yanez-Montalvo, A., Cadena, S., Chiappa-Carrara, X., & Herrera-Silveira, J. A. (2023). Sediment microbial community structure associated to different ecological types of mangroves in Celestún, a coastal lagoon in the Yucatan Peninsula, Mexico. *PeerJ*, 11, e14587. <https://doi.org/10.7717/peerj.14587>
- Gong, B., Cao, H., Peng, C., Perčulija, V., Tong, G., Fang, H., Wei, X., & Ouyang, S. (2019). High-throughput sequencing and analysis of microbial communities in the mangrove swamps along the coast of Beibu Gulf in Guangxi, China. *Scientific Reports*, 9(1), 9377. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45804-w>
- González Herrera, R. A., Albornoz Euán, B. S. I., Sánchez Y Pinto, I. A., & Osorio Rodríguez, J. H. (2018). The yucatán aquifer. Analysis of the risk of contamination with support of a geographic information system. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(4), 667-683. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.04.09>
- González-Herrera, R., Sánchez-y-Pinto, I., & Gamboa-Vargas, J. (2002). Groundwater-flow modeling in the Yucatan karstic aquifer, Mexico. *Hydrogeology Journal*, 10(5), 539-552. <https://doi.org/10.1007/s10040-002-0216-6>
- Graniel Castro, E. (2010). Hidrología. En *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán*.
- Gross J, Ligges U (2015).Nortest: Tests for Normality_. R package version 1.0-4,

<<https://CRAN.R-project.org/package=nortest>>.

- Guillén-Chable, F., Avila Castro, L. A., Rodríguez-Escamilla, Z., & Martínez-Núñez, M. A. (2022). Insights into coastal microbial antibiotic resistome through a meta-transcriptomic approach in Yucatan. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.972267>
- Gupta, R. S., Chander, P., & George, S. (2013). Phylogenetic framework and molecular signatures for the class *Chloroflexi* and its different clades; proposal for division of the class *Chloroflexi* class. Nov. Into the suborder *Chloroflexineae* subord. Nov., consisting of the emended family *Oscillochloridaceae* and the family *Chloroflexaceae* fam. Nov., and the suborder *Roseiflexineae* subord. Nov., containing the family *Roseiflexaceae* fam. Nov. *Antonie van Leeuwenhoek*, 103(1), 99-119. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9790-3>
- Haldar, S., & Nazareth, S. W. (2018). Taxonomic diversity of bacteria from mangrove sediments of Goa: Metagenomic and functional analysis. *3 Biotech*, 8(10), 436. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1441-6>
- Hamilton, S. E. (2020). Botany of Mangroves. En S. E. Hamilton, *Mangroves and Aquaculture* (Vol. 33, pp. 1-40). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-22240-6_1
- He, L., Sun, X., Li, S., Zhou, W., Chen, Z., & Bai, X. (2023). The vertical distribution and control factor of microbial biomass and bacterial community at macroecological scales. *Science of The Total Environment*, 869, 161754. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161754>
- Herrera-Silveira, J. A., & Morales-Ojeda, S. M. (s. f.). *Evaluation of the health status of a coastal ecosystem in southeast Mexico: Assessment of water quality, phytoplankton and submerged aquatic vegetation—ScienceDirect*. Recuperado 30 de noviembre de 2023, de <https://www.sciencedirect-com.pbidi.unam.mx:2443/science/article/pii/S0025326X08005353?via%3Dihub>
- Hildebrand, A. R., Penfield, G. T., Kring, D. A., Pilkington, M., Camargo Z., A., Jacobsen, S. B., & Boynton, W. V. (1991). Chicxulub Crater: A possible Cretaceous/Tertiary boundary impact crater on the Yucatán Peninsula, Mexico. *Geology*, 19(9), 867. [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(1991\)019<0867:CCAPCT>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1130/0091-7613(1991)019<0867:CCAPCT>2.3.CO;2)
- Hu, J., Miller, G., & Shi, W. (2023). Abundance, diversity, and composition of root-associated microbial communities varied with tall fescue cultivars under water deficit. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.1078836>
- Inagaki, F., Nunoura, T., Nakagawa, S., Teske, A., Lever, M., Lauer, A., Suzuki, M., Takai, K., Delwiche, M., Colwell, F. S., Nealson, K. H., Horikoshi, K., D'Hondt, S., & Jørgensen, B.

- B. (2006). Biogeographical distribution and diversity of microbes in methane hydrate-bearing deep marine sediments on the Pacific Ocean Margin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(8), 2815-2820. <https://doi.org/10.1073/pnas.0511033103>
- INEGI. (2001). Conjunto de datos vectoriales Fisiográficos. Continuo Nacional. Escala 1:1 000 000. Serie I (Subprovincias fisiográficas). Recuperado el 05/04/2023 de <https://datos.gob.mx/busca/dataset/conjunto-de-datos-vectoriales-fisiograficos-continuo-nacional-escala-1-1-000-000-serie-i/resource/d82b7280-5680-4968-95ec-6755590ae0a2>
 - INEGI. (2016). *Estudio de información integrada del acuífero cárstico Península de Yucatán Península de Yucatán*. www.inegi.org.mx
 - Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2002). *Estudio hidrológico del estado de Yucatán*. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
 - Iturbe-Espinoza, P., Bonte, M., Gundlach, E., Brandt, B. W., Braster, M., & Van Spanning, R. J. M. (2022). Adaptive changes of sediment microbial communities associated with cleanup of oil spills in Nigerian mangrove forests. *Marine Pollution Bulletin*, 176, 113406. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113406>
 - Jeffrey K. (2002). *Designation of protected karstlands in central america: a regional assessmen*. *Journal of Cave and Karst Studies*
 - Jiang, Y., Wang, Q., Du, Y., Yang, D., Xu, J., & Yan, C. (2023). Occurrence and Distribution of Tetrabromobisphenol A and Diversity of Microbial Community Structure in the Sediments of Mangrove. *Biology*, 12(5), 757. <https://doi.org/10.3390/biology12050757>
 - Kelly, D., Yang, L., & Pei, Z. (2017). Chapter 2—A Review of the Oesophageal Microbiome in Health and Disease. En C. Harwood (Ed.), *Methods in Microbiology* (Vol. 44, pp. 19-35). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.mim.2017.08.001>
 - Kim, M., & Chun, J. (2014). Chapter 4—16S rRNA Gene-Based Identification of Bacteria and Archaea using the EzTaxon Server. En M. Goodfellow, I. Sutcliffe, & J. Chun (Eds.), *Methods in Microbiology* (Vol. 41, pp. 61-74). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.mim.2014.08.001>
 - Kristensen, E., Bouillon, S., Dittmar, T., & Marchand, C. (2008). Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: A review. *Aquatic Botany*, 89(2), 201-219. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2007.12.005>
 - Kuczynski, J., Lauber, C. L., Walters, W. A., Parfrey, L. W., Clemente, J. C., Gevers, D., & Knight, R. (2012). Experimental and analytical tools for studying the human microbiome. *Nature Reviews Genetics*, 13(1), 47-58. <https://doi.org/10.1038/nrg3129>
 - Kumar, M., Boski, T., Lima-Filho, F. P., Bezerra, F. H. R., González -Vila, F. J., Alam

- Bhuiyan, M. K., & González-Pérez, J. A. (2019). Biomarkers as indicators of sedimentary organic matter sources and early diagenetic transformation of pentacyclic triterpenoids in a tropical mangrove ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 229, 106403. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2019.106403>
- Lai, J., Cheah, W., Palaniveloo, K., Suwa, R., & Sharma, S. (2022). A Systematic Review of the Physicochemical and Microbial Diversity of Well-Preserved, Restored, and Disturbed Mangrove Forests: What Is Known and What Is the Way Forward? *Forests*, 13(12), 2160. <https://doi.org/10.3390/f13122160>
 - Langille, M. G. I., Zaneveld, J., Caporaso, J. G., McDonald, D., Knights, D., Reyes, J. A., Clemente, J. C., Burkepile, D. E., Vega Thurber, R. L., Knight, R., Beiko, R. G., & Huttenhower, C. (2013). Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nature Biotechnology*, 31(9), 814-821. <https://doi.org/10.1038/nbt.2676>
 - Lee, M., Liang, G., Holland, S. I., O'Farrell, C., Osborne, K., & Manefield, M. J. (2022). Dehalobium species implicated in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin dechlorination in the contaminated sediments of Sydney Harbour Estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 179. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113690>
 - Liao, K., Bai, Y., Huo, Y., Jian, Z., Hu, W., Zhao, C., & Qu, J. (2018). Integrating microbial biomass, composition and function to discern the level of anthropogenic activity in a river ecosystem. *Environment International*, 116, 147-155. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.04.003>
 - López-Portillo, J., & Ezcurra, E. (2002). *Los manglares de México: Una revisión*. 8(Es1), 27-51.
 - Lozupone, C. and Knight, R. (2005). "UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities." *Applied and environmental microbiology* 71 (12): 8228-8235.
 - Ma, J., Zhou, T., Xu, C., Shen, D., Xu, S., & Lin, C. (2020). Spatial and Temporal Variation in Microbial Diversity and Community Structure in a Contaminated Mangrove Wetland. *Applied Sciences*, 10(17), 5850. <https://doi.org/10.3390/app10175850>
 - Malla, M. A., Dubey, A., Kumar, A., & Yadav, S. (2022). Metagenomic analysis displays the potential predictive biodegradation pathways of the persistent pesticides in agricultural soil with a long record of pesticide usage. *Microbiological Research*, 261, 127081. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127081>
 - Marchand, C., Lallier-Vergès, E., Disnar, J.-R., & Kéravis, D. (2008). Organic carbon sources and transformations in mangrove sediments: A Rock-Eval pyrolysis approach. *Organic*

Geochemistry, 39(4), 408-421. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2008.01.018>

- Marchesi, J. R., & Ravel, J. (2015). The vocabulary of microbiome research: A proposal. *Microbiome*, 3(1), 31, s40168-015-0094-0095. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0094-5>
- Marina, T. I., Herrera-Silveira, J. A., & Medina-Gómez, I. (2017). Respuesta de la comunidad de fitoplancton y zooplancton al afloramiento de agua subterránea y surgencia costera en la península de Yucatán, México. *Ecología Austral*, 27(2), 219-231. <https://doi.org/10.25260/EA.17.27.2.0.229>
- Martino, C., Morton, J.T., Marotz, C.A., Thompson, L.R., Tripathi, A., Knight, R. & Zengler, K. (2019) A novel sparse compositional technique reveals microbial perturbations. *mSystems* 4, 1.
- McDonald, D. Price MN, Goodrich J, Nawrocki EP, DeSantis TZ, Probst A, Andersen GL, Knight R, Hugenholtz P. (2012.). An improved Greengenes taxonomy with explicit ranks for ecological and evolutionary analyses of bacteria and archaea. *The ISME Journal*.
- Meng, S., Peng, T., Pratush, A., Huang, T., & Hu, Z. (2021). Interactions between heavy metals and bacteria in mangroves. *Marine Pollution Bulletin*, 172, 112846. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112846>
- Michał Krassowski. (2020). [krassowski/complex-upset](http://doi.org/10.5281/zenodo.3700590). Zenodo. <http://doi.org/10.5281/zenodo.3700590>
- Molina, E. (2015). Evidencia del impacto meteorítico del límite Cretácico/Paleógeno e interés de los cenotes de Yucatán. *Naturaleza Aragonesa*, 17-22.
- Mongad, D. S., Chavan, N. S., Narwade, N. P., Dixit, K., Shouche, Y. S., & Dhotre, D. P. (2021). MicFunPred: A conserved approach to predict functional profiles from 16S rRNA gene sequence data. *Genomics*, 113(6), 3635-3643. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2021.08.016>
- Monroy-Ríos, E. (2016). Sistema de carbonatos. *Skip to content Karst Geochemistry and Hydrogeology*. <https://sites.northwestern.edu/monroyrios/entradas-en-espanol/sistema-carbonatos/>
- Moreno-Gómez, M., Martínez-Salvador, C., Liedl, R., Stefan, C., & Pacheco, J. (2022). First application of the Integrated Karst Aquifer Vulnerability (IKAV) method—Potential and actual vulnerability in Yucatán, Mexico. *Natural Hazards and Earth System Sciences*, 22(5), 1591-1608. <https://doi.org/10.5194/nhess-22-1591-2022>
- Murgulet, D., Douglas, A., Herrera Silveira, J., Mariño Tapia, I., & Valle-Levinson, A. (2020, junio 1). *Submarine groundwater discharge along the northern coast of the Yucatán Peninsula*. <https://doi.org/10.5038/9781733375313.1060>
- Muwawa, E. M., Obieze, C. C., Makonde, H. M., Jefwa, J. M., Kahindi, J. H. P., & Khasa, D.

- P. (2021). 16S rRNA gene amplicon-based metagenomic analysis of bacterial communities in the rhizospheres of selected mangrove species from Mida Creek and Gazi Bay, Kenya. *PLOS ONE*, *16*(3), e0248485. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248485>
- Navarrete-Euan, H., Rodríguez-Escamilla, Z., Pérez-Rueda, E., Escalante-Herrera, K., & Martínez-Núñez, M. A. (2021). Comparing sediment microbiomes in contaminated and pristine wetlands along the coast of Yucatan. *Microorganisms*, *9*(4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040877>
 - Nguyen, N.-P., Warnow, T., Pop, M., & White, B. (2016). A perspective on 16S rRNA operational taxonomic unit clustering using sequence similarity. *Npj Biofilms and Microbiomes*, *2*(1), 16004. <https://doi.org/10.1038/npjbiofilms.2016.4>
 - Oksanen J, Simpson G, Blanchet F, Kindt R, Legendre P, Minchin P, O'Hara R, Solymos P, Stevens M, Szoecs E, Wagner H, Barbour M, Bedward M, Bolker B, Borcard D, Carvalho G, Chirico M, De Caceres M, Durand S, Evangelista H, FitzJohn R, Friendly M, Furneaux B, Hannigan G, Hill M, Lahti L, McGlinn D, Ouellette M, Ribeiro Cunha E, Smith T, Stier A, Ter Braak C, Weedon J (2022). *_vegan: Community Ecology Package_*. R package version 2.6-4, <<https://CRAN.R-project.org/package=vegan>>.
 - Ortiz-Estrada, Á. M., Gollas-Galván, T., Martínez-Córdova, L. R., & Martínez-Porchas, M. (2019). Predictive functional profiles using metagenomic 16S rRNA data: A novel approach to understanding the microbial ecology of aquaculture systems. *Reviews in Aquaculture*, *11*(1), 234-245. <https://doi.org/10.1111/raq.12237>
 - Osburn, M. R., Selensky, M. J., Beddows, P. A., Jacobson, A., DeFranco, K., & Merediz-Alonso, G. (2023). Microbial biogeography of the eastern Yucatán carbonate aquifer. *Applied and Environmental Microbiology*, *89*(11), e01682-23. <https://doi.org/10.1128/aem.01682-23>
 - Palit, K., Rath, S., Chatterjee, S., & Das, S. (2022). Microbial diversity and ecological interactions of microorganisms in the mangrove ecosystem: Threats, vulnerability, and adaptations. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(22), 32467-32512. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19048-7>
 - Pedregosa, F., Varoquaux, G., Gramfort, A., Michel, V., Thirion, B., Grisel, O., Blondel, M., Prettenhofer, P., Weiss, R., Dubourg, V., Vanderplas, J., Passos, A., Cournapeau, D., Brucher, M., Perrot, M., & Duchesnay, É. (2011). Scikit-Learn: Machine Learning in Python. *J. Mach. Learn. Res.*, *12*(null), 2825-2830.
 - Perera-Rios, J., Ruiz-Suarez, E., Bastidas-Bastidas, P. de J., May-Euán, F., Uicab-Pool, G., Leyva-Morales, J. B., Reyes-Novelo, E., & Pérez-Herrera, N. (2021). Agricultural pesticide residues in water from a karstic aquifer in Yucatan, Mexico, pose a risk to children's health.

- Pérez, A., Cebrián-Torrejón, G., Montoya, N., Piquero-Cilla, J., Sanders, C. J., Doménech-Carbó, A., & Machado, W. (2021). Organic Matter Redox State Driven by Specific Sources in Mangrove Sediments: A Case Study from Peruvian Ecosystems. *Journal of Marine Science and Engineering*, 9(12), 1438. <https://doi.org/10.3390/jmse9121438>
- Perry, E., & Socki, R. (2003). *Hydrogeology of the Yucatán Peninsula*. <https://www.researchgate.net/publication/267797484>
- Pielou, E. (1966). “The measurement of diversity in different types of biological collections”. *J. Theor. Biol.* (13): 131-144.
- Polanco Rodríguez, A. G., Alberto, J. A. N., Sánchez, J. S., Rejón, G. J. M., Gómez, J. M., & Del Valls Casillas, T. A. (2015). Contamination by organochlorine pesticides in the aquifer of the R ing of C enotes in Y ucatán, México. *Water and Environment Journal*, 29(1), 140-150. <https://doi.org/10.1111/wej.12080>
- Polanco Rodríguez, Á. G., Inmaculada Riba López, M., Angel DelValls Casillas, T., León, J. A. A., Anjan Kumar Prusty, B., & Álvarez Cervera, F. J. (2017). Levels of persistent organic pollutants in breast milk of Maya women in Yucatan, Mexico. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(2). <https://doi.org/10.1007/s10661-017-5768-y>
- Polanco-Rodríguez, A. G., Arcega-Cabrera, F., Araujo-León, J. A., & Lamas-Cosío, E. (2020). Organochlorine Pesticides and Potentially Toxic Elements in Groundwater from a Protected Reserve in the Maya Region of Hopelchen, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104(5), 568-574. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02848-3>
- Puthusseri, R. M., Nair, H. P., Johny, T. K., & Bhat, S. G. (2021). Insights into the response of mangrove sediment microbiomes to heavy metal pollution: Ecological risk assessment and metagenomics perspectives. *Journal of Environmental Management*, 298, 113492. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113492>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glöckner, F. O. (2012). The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D590-D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria <https://www.R-project.org/>
- Rodríguez, A. G. P., López, M. I. R., Casillas, Á. D. V., León, J. A. A., & Banik, S. D. (2018). Impact of pesticides in karst groundwater. Review of recent trends in Yucatan, Mexico.

Groundwater for Sustainable Development, 7, 20-29.
<https://doi.org/10.1016/j.gsd.2018.02.003>

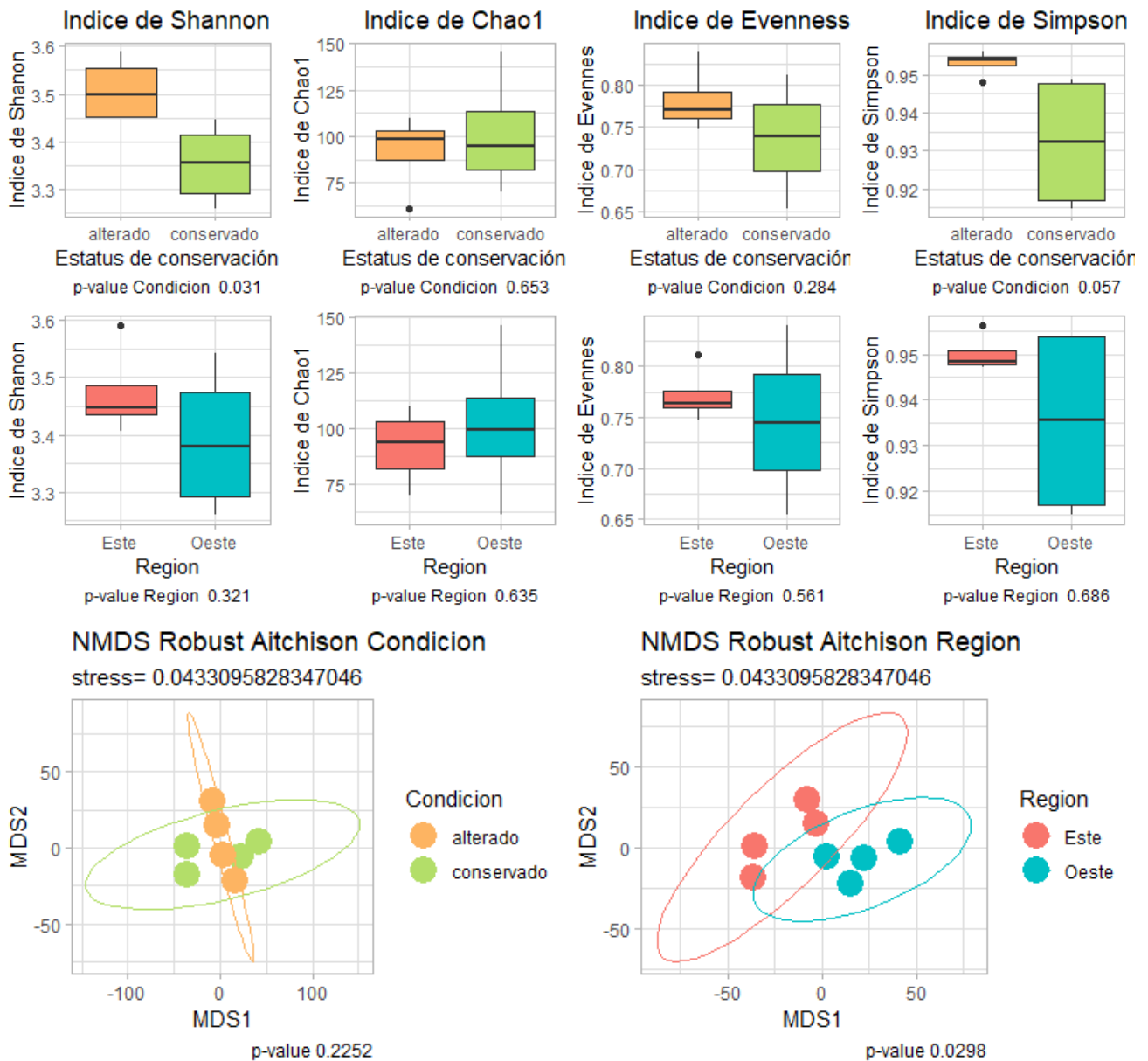
- Romano, R. G., Bendia, A. G., Moreira, J. C. F., Franco, D. C., Signori, C. N., Yu, T., Wang, F., Jovane, L., & Pellizari, V. H. (2021). Bathymicrobia occurrence in rich methane sediments from a Brazilian lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 263. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2021.107631>
- Ruiz-Fernández, A. C., Agraz-Hernández, C. M., Sanchez-Cabeza, J. A., Díaz-Asencio, M., Pérez-Bernal, L. H., Chan Keb, C. A., López-Mendoza, P. G., Blanco Y Correa, J. M., Ontiveros-Cuadras, J. F., Osti Saenz, J., & Reyes Castellanos, J. E. (2018). Sediment Geochemistry, Accumulation Rates and Forest Structure in a Large Tropical Mangrove Ecosystem. *Wetlands*, 38(2), 307-325. <https://doi.org/10.1007/s13157-017-0969-2>
- Sakho, I., Mesnage, V., Copard, Y., Deloffre, J., Faye, G., Lafite, R., & Niang, I. (2015). A cross-section analysis of sedimentary organic matter in a mangrove ecosystem under dry climate conditions: The Somone estuary, Senegal. *Journal of African Earth Sciences*, 101, 220-231. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2014.09.010>
- Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., Lesniewski, R. A., Oakley, B. B., Parks, D. H., Robinson, C. J., Sahl, J. W., Stres, B., Thallinger, G. G., Van Horn, D. J., & Weber, C. F. (2009). Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7537-7541. <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>
- Servicio Geológico Mexicano. (2005). *CARTA GEOLÓGICO-MINERA TIZIMÍN CLAVE (F16-7) ESCALA 1:250 000 ESTADO DE YUCATAN*.
- Shannon, C.E. and Weaver, W. (1949). "The mathematical theory of communication". University of Illinois Press, Champaign, Illinois.
- Simpson, E.H. (1949). "Measurement of diversity". *Nature*. (163): 688.
- Streit, W. R., & Schmitz, R. A. (2004). Metagenomics – the key to the uncultured microbes. *Current Opinion in Microbiology*, 7(5), 492-498. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.08.002>
- Suárez-Moo, P., Remes-Rodríguez, C. A., Márquez-Velázquez, N. A., Falcón, L. I., García-Maldonado, J. Q., & Prieto-Davó, A. (2022). Changes in the sediment microbial community structure of coastal and inland sinkholes of a karst ecosystem from the Yucatan peninsula. *Scientific Reports*, 12(1), 1110. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05135-9>
- Sun, S., Jones, R. B., & Fodor, A. A. (2020). Inference-based accuracy of metagenome prediction tools varies across sample types and functional categories. *Microbiome*, 8(1).

Scopus. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00815-y>

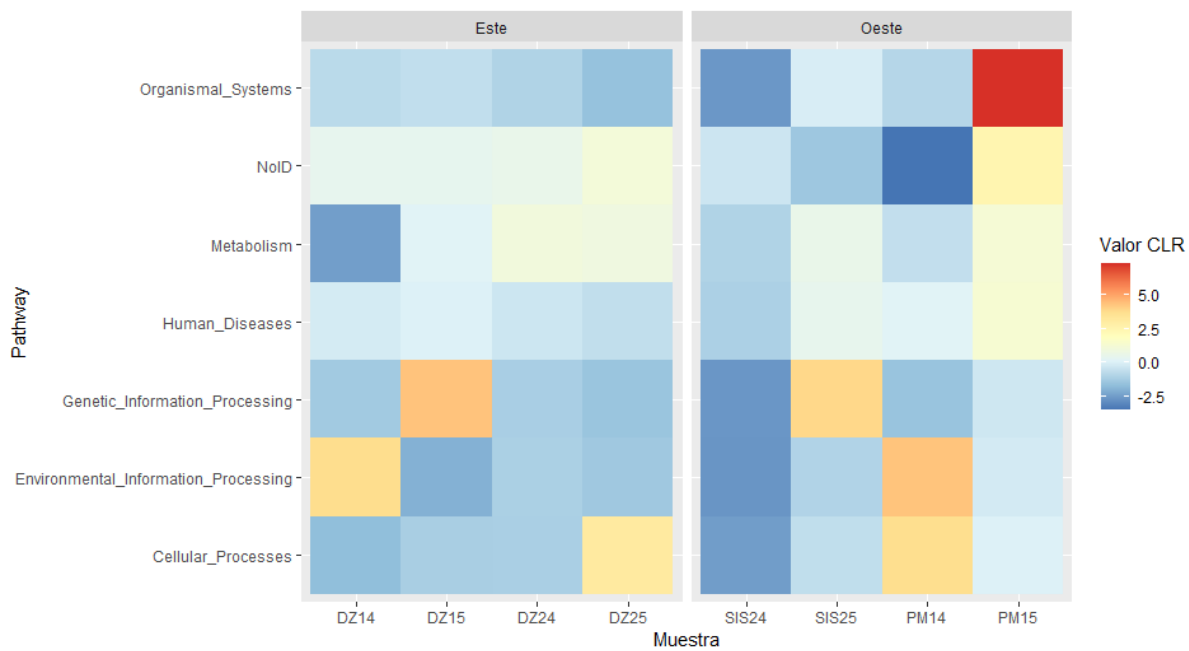
- Thiel, V., Fukushima, S. I., Kanno, N., & Hanada, S. (2019). Chloroflexi. En *Encyclopedia of Microbiology* (pp. 651-662). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20771-1>
- Tickle, T. L., Segata, N., Waldron, L., Weingart, U., & Huttenhower, C. (2013). Two-stage microbial community experimental design. *The ISME Journal*, 7(12), 2330-2339. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.139>
- Troccoli-Ghinaglia, L., Herrera-Silveira, J. A., Comín, F. A., & Díaz-Ramos, J. R. (2010). Phytoplankton community variations in tropical coastal area affected where submarine groundwater occurs. *Continental Shelf Research*, 30(20), 2082-2091. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2010.10.009>
- Trofimova, E., & Hada, A. (2016). Location, nature and extent of karst environments at a global scale. *Zeitschrift Für Geomorphologie, Supplementary Issues*, 60(2), 17-33. https://doi.org/10.1127/zfg_suppl/2016/00317
- van den Boogaart KG, Tolosana-Delgado R, Bren M (2023)._compositions: Compositional Data Analysis_. R package version 2.0-6, <<https://CRAN.R-project.org/package=compositions>>.
- Velázquez-Salazar, S., Rodríguez-Zúñiga, M. T., Alcántara-Maya, J. A., Villeda-Chávez, E., Valderrama-Landeros, L., Troche-Souza, C., Vázquez-Balderas, B., Pérez-Espinosa, I., Cruz-López, M. I., Ressler, I., De la Borbolla, D. V. G., Paz, O., Aguilar-Sierra, V., Hruby, F., & Muñoa-Coutiño, J. (2021). *Manglares de México. Actualización y análisis de los datos 2020* (1.ª ed.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Walker, L. M., Hoppe, T., & Silliker, M. E. (2022). Chapter 6—Molecular techniques and current research approaches. En C. Rojas & S. L. Stephenson (Eds.), *Myxomycetes (Second Edition)* (pp. 195-229). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824281-0.00006-3>
- Wemheuer, F., Taylor, J. A., Daniel, R., Johnston, E., Meinicke, P., Thomas, T., & Wemheuer, B. (2020). Tax4Fun2: Prediction of habitat-specific functional profiles and functional redundancy based on 16S rRNA gene sequences. *Environmental Microbiome*, 15(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s40793-020-00358-7>
- Wickham, H. (2016). ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York.
- Wu, Y., Jiang, B., Zou, Y., Dong, H., Wang, H., & Zou, H. (2022). Influence of bacterial community diversity, functionality, and soil factors on polycyclic aromatic hydrocarbons under various vegetation types in mangrove wetlands. *Environmental Pollution*, 308, 119622. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119622>

- Yu, T., Wu, W., Liang, W., Lever, M. A., Hinrichs, K.-U., & Wang, F. (2018). Growth of sedimentary *Bathyarchaeota* on lignin as an energy source. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(23), 6022-6027. <https://doi.org/10.1073/pnas.1718854115>
- Yu, T., Wu, W., Liang, W., Wang, Y., Hou, J., Chen, Y., Elvert, M., Hinrichs, K.-U., & Wang, F. (2023). Anaerobic degradation of organic carbon supports uncultured microbial populations in estuarine sediments. *Microbiome*, 11(1), 81. <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01531-z>
- Zaldívar Jiménez, Arturo., Herrera Silveira, Jorge., Teutli Hernández, Claudia., Hernández Saavedra, Raquel., & Caamal Sosa, Juan. (2010). Manglares. En Rafael. Durán García & M. Elena. Méndez González (Eds.), *Biodiversidad y desarrollo humano en Yucatán*.
- Zhang, X., Chen, Z., Yu, Y., Liu, Z., Mo, L., Sun, Z., Lin, Z., & Wang, J. (2022). Response of bacterial diversity and community structure to metals in mangrove sediments from South China. *Science of The Total Environment*, 850, 157969. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157969>
- Zhang, Z.-F., Liu, L.-R., Pan, Y.-P., Pan, J., & Li, M. (2023). Long-read assembled metagenomic approaches improve our understanding on metabolic potentials of microbial community in mangrove sediments. *Microbiome*, 11(1), 188. <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01630-x>
- Zhou, Z., Meng, H., Liu, Y., Gu, J.-D., & Li, M. (2017). Stratified Bacterial and Archaeal Community in Mangrove and Intertidal Wetland Mudflats Revealed by High Throughput 16S rRNA Gene Sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02148>

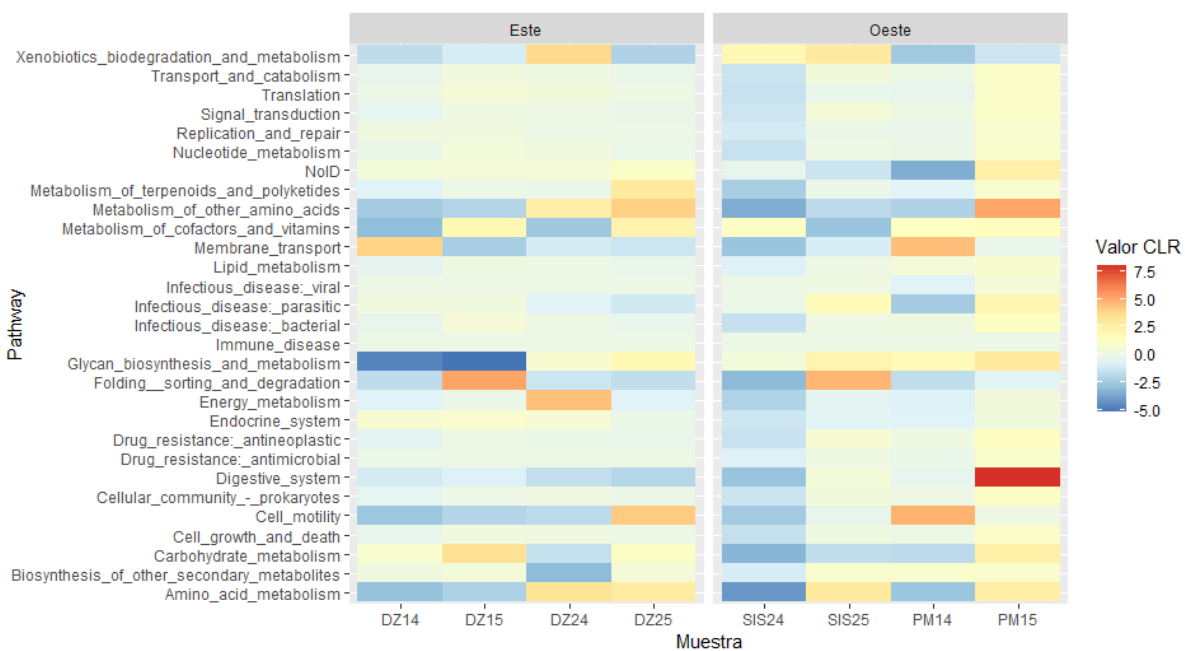
Anexos



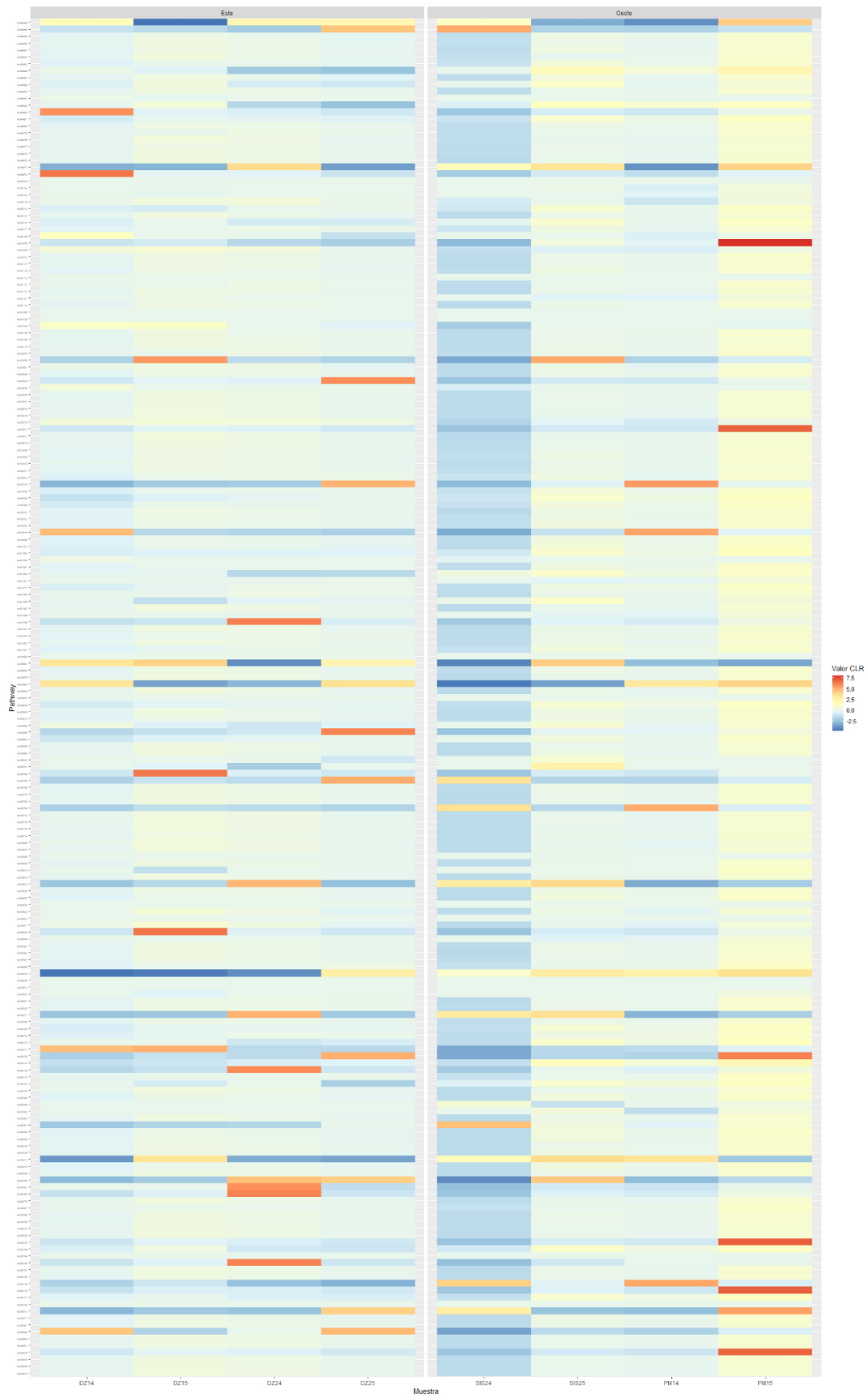
Anexo 1. Índices de diversidad alfa y diversidad beta para ASV anotados a nivel de orden.



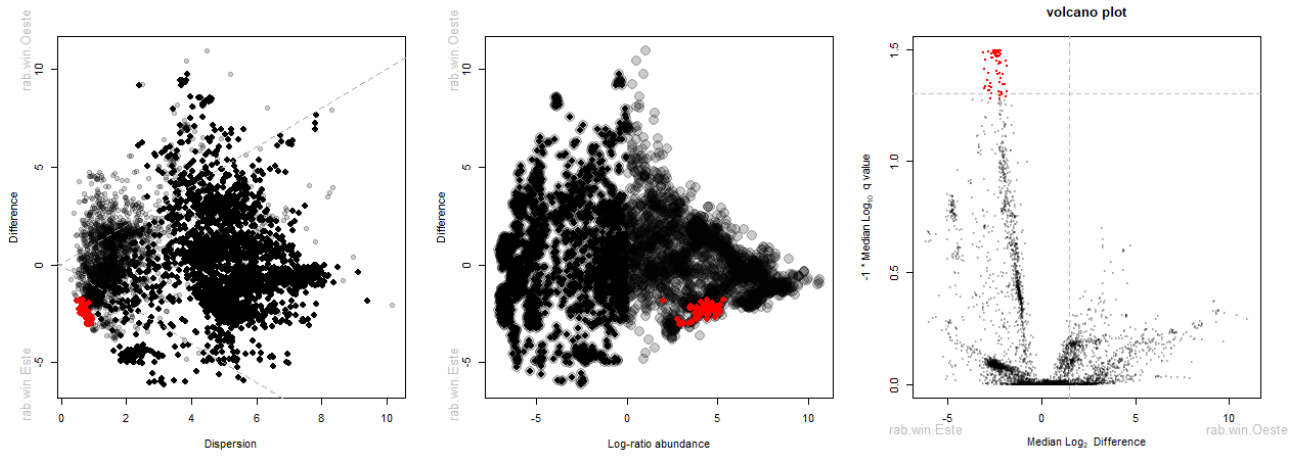
Anexo 2. Heatmap valores normalizados con la función CLR del nivel 1 KEGG.



Anexo 3. Heatmap valores normalizados con la función CLR del nivel 2 KEGG.



Anexo 4. Heatmap valores normalizados con la función CLR del nivel 3 KEGG.



Anexo 5. Resultados de ALDEX 2 para regiones de muestreo. a) Descripción de la diferencia en la variación entre muestras c) Volcano plot. Los puntos rojos representan aquellos KOs que presentan genes diferenciales entre regiones de muestreo.