



UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON
ORIENTACIÓN EN BIOLOGÍA MOLECULAR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y
TECNOLOGÍA

**Diversidad y taxonomía de comunidades bacterianas en suelo de
bosques de manglar urbano y rural de la Bahía de Panamá**

Indira Jh. Quintero Pérez de Vargas

**Tesis presentada como uno de los
requisitos para optar al grado de
Maestría en Ciencias Biológicas con
Orientación en Biología Molecular.**

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2026

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi esposo y mi hijo, pilares de amor y fortaleza en cada paso de este camino.

A Dios, por haberme permitido culminar con éxito mis estudios.

Y a mí, por no rendirme y seguir adelante con determinación.

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme sabiduría y salud para terminar esta etapa de mis estudios.

A la Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología (SENACYT) por el financiamiento otorgado a lo largo de la maestría.

Agradezco a mi coordinador de maestría, él Dr. Enrique Medianero, por su invaluable orientación durante el desarrollo de mi maestría y trabajo de investigación.

A mi asesor el Dr. Luis Mejía por su apoyo, consejos, orientación y recomendación en la realización de esta investigación.

A la Lic. Evangelina López por su apoyo incondicional durante el desarrollo de este trabajo de investigación.

Finalmente, a mis compañeros de maestría, con quienes compartí aprendizajes y momentos memorables que llevaré siempre conmigo.

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	3
I. INTRODUCCIÓN	5
II. OBJETIVOS	9
2.1. Objetivo general	9
2.2. Objetivos específicos	9
III. REVISIÓN DE LITERATURA	10
3.1. Características del ecosistema de manglar	10
3.2. Ecología de las comunidades microbianas	11
3.3. Comunidades bacterianas en sedimento de manglar	12
3.4. Manglares de la Bahía de Panamá	14
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	16
4.1. Área de estudio	16
4.1.1. Bayano	16
4.1.2. Juan Díaz	17
4.2. Recolección de muestras	18
4.3. Trabajo molecular	19
4.4. Amplificación de ADN	19
4.5. Preparación de la biblioteca de ADN	20
4.6. Análisis bioinformático	21
4.7. Diversidad bacteriana y composición de la comunidad	22
V. RESULTADOS	26
5.1. Estructura y composición de las comunidades bacterianas	26

5.2. Análisis de diversidad alfa y beta	29
5.3. Efectos de la estacionalidad en la composición de la comunidad bacteriana en Juan Díaz	31
VI. DISCUSIÓN	34
VII. CONCLUSIONES	41
VIII. LITERATURA CONSULTADA	43
ANEXOS.....	55

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sitios de muestreo en Panamá	16
Figura 2. Áreas de manglar en Bayano.....	17
Figura 3. Áreas de manglar en Juan Díaz	18
Figura 4. Ejemplo de electroforesis de producto de PCR1 usando los cebadores (515F - 806R), producto de 1000 pb.....	20
Figura 5. Metodología utilizada	24
Figura 6. Abundancia relativa de los taxones bacterianos asociados con los manglares de Bayano y Juan Díaz.	28
Figura 7. La diversidad filogenética es mayor en el sitio de manglar rural y menos contaminado de Bayano que en el sitio urbano de Juan Díaz; y los cambios a través del tiempo fueron mayores en la estación lluviosa (diciembre y mayo) que en la estación seca (febrero).....	30
Figura 8. Diagrama de Venn	31
Figura 9. Abundancia relativa de los taxones bacterianos más comunes en los dos sitios de manglar	33
Figura 10. Gráfico de calidad de las secuencias forward.....	55
Figura 11. Gráfico de calidad de secuencias reverse.....	55
Figura 12. Curvas de rarefacción de diversidad filogenética bacteriana.....	56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Lista de muestras usadas en análisis bioinformático presentado en este trabajo	25
Cuadro 2. Abundancia relativa (% $\pm$ DE) de los taxones de bacterias más comunes asociados con Bayano y Juan Díaz.....	57
Cuadro 3. Abundancia relativa (% $\pm$ DE) de los taxones de bacterias más comunes asociados a los meses de Juan Díaz.....	58

RESUMEN

Los ecosistemas de manglares están amenazados en todo el mundo por una amplia gama de factores, incluidos el cambio climático, el desarrollo costero y la contaminación. Los efectos de estos factores en las comunidades bacterianas del suelo de los manglares neotropicales y su dinámica temporal son poco conocidos. En este trabajo comparamos la diversidad y la composición taxonómica de las comunidades bacterianas en el suelo de dos sitios de bosque de manglar en la Bahía de Panamá: Juan Díaz (JD), un bosque de manglar urbano en ciudad de Panamá rodeado de desarrollo urbano, con presencia de cinco especies de mangle, y contaminado con desechos sólidos y aguas residuales; y Bayano (B), un bosque de manglar rural sin desarrollo urbano, sin contaminación por desechos sólidos y con presencia de dos especies de mangle. Se implementó la secuenciación masiva de amplicones de la región V4 del gen 16S rRNA y análisis de comunidades. Se identificaron 20,691 variantes de secuencias de amplicones del gen 16S rRNA y se encontró que la comunidad bacteriana era más diversa en el bosque de manglar rural según el índice de diversidad filogenética de Faith. Los tres filos dominantes de bacterias encontrados y compartidos entre los dos sitios fueron Proteobacteria, Desulfobacterota y Chloroflexi. La clase de arqueas oxidantes de amoníaco Nitrosphaeria se encontró entre las 10 más abundantes. Los géneros dominantes de bacterias que ocurrieron en los dos sitios de manglar fueron: BD2-11_terrestrial_group (Gemmatimonadota), EPR3968-O8a-Bc78 (Gammaproteobacteria), *Salinimicrobium* (Bacteroidetes), *Sulfurovum* (Campylobacteria) y *Woeseia* (Gammaproteobacteria), de los cuales los tres primeros y *Methyloceanibacter* aumentaron en abundancia relativa en la transición de estación lluviosa a seca y luego a la lluviosa en el bosque de manglar urbano. Este estudio sugiere

que factores como el desarrollo urbano, la composición de la vegetación, la contaminación y los cambios estacionales pueden causar cambios en la diversidad bacteriana y la abundancia relativa de taxones específicos en los suelos de manglar. En particular, de taxones con funciones en los ciclos biogeoquímicos del carbono, nitrógeno, azufre y fósforo; y sobre taxones de la rizosfera que podrían ser importantes para la tolerancia de las plantas de mangle a estrés ambiental.

ABSTRACT

Mangrove ecosystems are threatened worldwide by a wide range of factors including climate change, coastal development, and pollution. The effects of these factors on soil bacterial communities of Neotropical mangroves and their temporal dynamics is poorly known. In this work, we compared the diversity and taxonomic composition of bacterial communities in the soil of two mangrove forest sites of the Panama Bay: Juan Diaz (JD), an urban mangrove forest in Panama City surrounded by urban development, with occurrence of five mangrove species, and polluted with solid waste and sewage; and Bayano (B), a rural mangrove forest without urban development, without solid waste pollution, and with presence of two mangrove species. Massive amplicon sequencing of the V4 region of the 16S rRNA gene and community analyses were conducted. 20,691 bacterial amplicon sequence variants were identified, and the bacterial community was more diverse in the rural mangrove forest based on Faith's phylogenetic diversity index. The three dominant phyla of bacteria found and shared between the two sites were Proteobacteria, Desulfobacterota, and Chloroflexi. The ammonia oxidizing archaea class Nitrosphaeria was found among the top 10 most abundant. Dominant genera of bacteria that occurred in the two mangrove sites were: BD2-11_terrestrial_group (Gemmatimonadota), EPR3968-O8a-Bc78 (Gammaproteobacteria), *Salinimicrobium* (Bacteroidetes), *Sulfurovum* (Campylobacteria) and *Woeseia* (Gammaproteobacteria) of which the first three and *Methyloceanibacter* had increased relative abundance in the transition from rainy to dry to rainy season in the urban mangrove forest. Altogether, this study suggests that factors such as urban development, vegetation composition, pollution, and seasonal changes may cause shifts in bacterial diversity and relative abundance of specific taxa

in mangrove soils. Particularly taxa with roles in biogeochemical cycles of carbon, nitrogen, sulfur, and phosphorus; and on rhizosphere taxa that could be important for mangrove plants tolerance to environmental stress.

I. INTRODUCCIÓN

Los manglares son ecosistemas únicos y diversos, que cubren el 75% de las zona intermareal de latitudes tropicales y subtropicales (Barbier *et al.*, 2008)(Giri *et al.*, 2011). Están ampliamente distribuidos en 137.769 km² de las costas de todo el mundo, distribuidos en 118 países y proporcionan una amplia variedad de servicios ecosistémicos de apoyo y regulación (Bouillon *et al.*, 2008) (Getzner and Islam, 2020). Los ecosistemas de manglar son reconocidos por mitigar los efectos del cambio climático, por su capacidad de absorber y almacenar carbono, así como por proteger las costas de la erosión y el aumento del nivel del mar (Howard *et al.*, 2017). Los manglares son altamente productivos y contienen comunidades complejas de bacterias con funciones importantes en los ciclos de nutrientes y en la descomposición de materia orgánica a fuentes de nitrógeno y fósforo que pueden ser utilizadas por las plantas (Guo, Gong and Guo, 2015)(Mendes and Tsai, 2018).

La microbiota contribuye de manera importante a mantener activo el ecosistema de los manglares; comprendida por diversos microorganismos que participan en los ciclos de los elementos, descomposición de la materia orgánica y la mineralización, promoviendo el crecimiento vegetal (Allard *et al.*, 2020) (Tavares *et al.*, 2021). Las comunidades microbianas del suelo participan en el ciclo biogeoquímico de los manglares, el ciclo de nutrientes, producción de plantas y liberan gases de efecto invernadero como dióxido de carbono, metano y óxido nitroso a la atmósfera (Allard *et al.*, 2020)(Gomes *et al.*, 2010)(Tellez-Rio *et al.*, 2015).

Las comunidades microbianas en los suelos de manglares se ven afectadas por las propiedades biogeográficas, ecológicas y antropogénicas del ecosistema (Gomes *et al.*, 2010). Debido a las características fisicoquímicas únicas del suelo de los manglares,

como los niveles de oxígeno, la salinidad y las variaciones de pH, este ecosistema es muy diverso en formas de vida microbiana (Mendes and Tsai, 2018), y por lo tanto, es un depósito prometedor de microorganismos de interés biotecnológico (Thatoi *et al.*, 2013). El suelo tiene un papel fundamental debido a su distribución natural y actividad biológica, ya que crea condiciones físicas y químicas que afectan varios factores como la anaerobiosis del suelo, acumulación de materia orgánica, disponibilidad de nutrientes, riqueza y composición de especies; determinando qué tipo de especies permanecen en los humedales y su productividad primaria (Torres, Barba and Choix, 2018).

Se han empleado varios enfoques para estudiar las interacciones de las poblaciones microbianas de los suelos de manglares, incluidas las técnicas tradicionales basadas en cultivos, la huella genética como ARISA y T-RFLP, y la clonación molecular de marcadores genéticos microbianos en muestras para estudios filogenéticos y funcionales. De la misma manera, los modelos ecológicos se han utilizado ampliamente para comprender la distribución microbiana en el espacio y el tiempo (Taketani *et al.*, 2010)(Rigonato *et al.*, 2018). Los análisis de la microbiota a través de tecnologías ómicas, incluida la metagenómica, respaldan la identificación casi completa de microorganismos en el suelo (Andreote *et al.*, 2012).

El trabajo de Holguin *et al.* (2001) indica que es imposible comprender los mecanismos de sostenimiento del ecosistema de manglar sin abordar el estudio de su microbiota, ya que resulta fundamental para su mantenimiento y constituye un universo de diversidad filogenética y metabolismo funcional. Dentro de esta amplia diversidad microbiana encontrada en los manglares, aproximadamente el 91% de la biomasa corresponde a organismos de tipo procariótico (Bacterias y Archaea); se estima que solo se han

descrito menos del 5% de las especies microbianas del ambiente de los manglares (Dhariwal *et al.*, 2017). En términos generales, se ha cultivado menos del 1 % de la diversidad microbiana y solo se ha examinado químicamente el 5 % de los microorganismos cultivados, incluidas las bacterias y los hongos (Xu, 2015).

Los manglares forman importantes barreras contra tormentas, inundaciones y enormes canales de drenaje que evitan la sedimentación. Los microorganismos que habitan en los sedimentos de los manglares juegan un papel crítico en los ciclos del carbono, nitrógeno y fósforo, así como en la deposición de metales pesados de las tierras adyacentes y las importaciones de los ríos, a través de procesos metabólicos (Cao *et al.*, 2011). El creciente nivel de contaminación en los sedimentos de los manglares ha comenzado a representar una seria amenaza para los manglares, con una pérdida de plantas a una tasa estimada de ~ 1-2% a nivel mundial por año (Jing *et al.*, 2016). Aunque los manglares actúan como plantas de tratamiento de aguas residuales naturales, exhibiendo una sólida capacidad de restauración del ecosistema, los crecientes niveles de contaminantes ahora están sobrecargando los sedimentos de los manglares. Este aumento de la contaminación influye en la capacidad de los manglares para restablecer el ciclo de nutrientes al afectar a los microorganismos que habitan en los sedimentos (Duke *et al.*, 2007). Se ha demostrado que la contaminación de los sedimentos de los manglares puede promover significativamente la diversidad de la comunidad microbiana en su conjunto, pero al mismo tiempo tiene un impacto negativo en algunos grupos específicos de microorganismos (Li *et al.*, 2011)(Li *et al.*, 2019).

La composición taxonómica, los análisis funcionales y la dinámica temporal de las comunidades bacterianas en el suelo de los manglares no se han descrito completamente. El presente estudio se realizó para caracterizar la diversidad y

composición taxonómica de las comunidades bacterianas en dos localidades de manglares con niveles contrastantes de desarrollo costero, composición de especies vegetales, y polución en la Bahía de Panamá (República de Panamá) y para evaluar los posibles cambios en la composición de la comunidad bacteriana debido a cambios estacionales en uno de los sitios.

II. OBJETIVOS

2.1.Objetivo General

- Desarrollar una línea base sobre la diversidad y composición taxonómica de comunidades bacterianas asociada a suelo de bosques de manglar de la Bahía de Panamá.

2.2. Objetivo Específicos

- Identificar taxones de bacterias asociadas a suelo de manglar mediante secuenciación masiva de amplicones de la región V4 del gen 16S.
- Comparar la diversidad de bacterias de suelo de bosque de manglar de dos localidades con niveles contrastantes de desarrollo costero, composición de especies vegetales y polución.
- Evaluar si la diversidad y abundancia relativa de bacterias de suelo de bosque de manglar se ve afectada por cambios estacionales, en particular en la transición de la época lluviosa a seca a lluviosa.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Características del ecosistema de manglar

Los manglares son ecosistemas costeros ubicados en la transición entre ambientes terrestres y marinos, sirven de refugio, guardería, y área de reproducción para diversas especies marinas (Lee, 2004). Es un área compuesta por grupos de árboles, arbustos, matorrales, y donde el principal integrante es el árbol de mangle. El manglar es un tipo de humedal, es uno de los ecosistemas más ricos y diversos del planeta, debido a la gran cantidad de especies marinas, terrestres y aéreas que allí habitan. Son ecosistemas que solo crecen en zonas tropicales y subtropicales del planeta, por lo general se encuentran asociados a arrecifes de coral, pastos marinos y fangales, y se estima que ocupan el 3% de la superficie terrestre (ANAM-ARAP, 2013) (SEMARNAT, 2011).

El manglar es un ecosistema prioritario ante el cambio climático y la necesidad de reducir el CO₂, encontrándose entre los ecosistemas de mayor productividad a nivel global (McLeod *et al.*, 2011). Estos ecosistemas son de importancia para la protección de las áreas costeras formando barreras protectoras que reducen los daños causados por las tormentas, evitando el impacto de las olas, la erosión e inundación, proveen servicios cruciales para la humanidad, como alimentos ya que favorecen la cría de peces y algunas otras especies marinas que son de consumo humano (Lee, 2004).

Los manglares tropicales son uno de los ecosistemas más amenazados en el mundo debido a los impactos antropogénicos como los son la agricultura, el desarrollo costero, la urbanización, la explotación de los recursos y la contaminación (Stewart *et al.*, 2022). Para finales del siglo XX, las áreas de

manglares habían disminuido en un 35% a nivel mundial. La deforestación de los manglares se redujo entre el 2000 y 2012 entre un 0,2 – 0,7%, pero las interacciones de factores naturales y antropogénicos han llevado a una desaparición a gran escala de manglares en todo el mundo (Van Hooideonk, Maynard and Planes, 2013)(Luo, Not and Cannicci, 2021).

3.2.Ecología de las comunidades microbianas

Comunidad se define como la interacción de múltiples especies en un ambiente definido. Esta definición ha sido objeto de debate debido a que sus lineamientos tienen que ver más con el interés de los ecólogos que con sus características inherentes y en el caso de comunidad microbiana la delimitación y definición es aún más compleja. El concepto de ecología de comunidades surgió con el estudio de organismos superiores como vegetal y animal. La ecología de comunidades analiza cómo están estructurados los ensambles biológicos, su interacciones funcionales y cómo cambia su estructura en el espacio y en el tiempo (Konopka, 2009).

Las comunidades microbianas juegan un papel fundamental en todos los ambientes. A través de su gran diversidad genética, metabólica y fisiológica, impulsan los ciclos de nutrientes, degradan materiales de desecho y los contaminantes, producen y consumen gases de invernadero. Estos aspectos de la diversidad indican que la ecología de las comunidades microbianas predice la salud de un ecosistema y su resiliencia (Prosser and Martiny, 2020).

Hasta la década de 1990 se requería el cultivo de microorganismos en el laboratorio a partir de muestras ambientales para el estudio de las comunidades microbianas. Con el desarrollo y aplicación de técnicas de cultivos basadas en el análisis molecular de genes y aún más reciente el metagenoma y proteínas, se

ha revelado una cantidad inimaginable de diversidad microbiana, incluidos filos bacterianos. Con la introducción de nuevas técnicas, la ecología de comunidades microbianas ha estado dominada por estudios descriptivos que proporcionan inventarios de secuencias de genes y esto ha llevado a una disminución en el enfoque conceptual y teórico de la ecología microbiana (Prosser, 2020). El análisis adecuado de las comunidades microbianas debe estar acompañado de componentes abióticos.

3.3. Comunidades bacterianas en sedimentos de manglar

La interacción entre microorganismos y plantas favorecen el reciclaje de nutrientes dentro del ecosistema de manglar, promoviendo la sobrevivencia de los manglares debido a la transformación de nutrientes vegetales como ramas y hojas muertas de los árboles, la cual se lleva a cabo mediante los microorganismos del sedimento que coexisten en el manglar generando productos como carbono, nitrógeno, fósforo y otros nutrientes que son utilizados por las plantas (Mai *et al.*, 2021).

Las bacterias son las principales responsables del flujo de carbono en los sedimentos de manglar y procesan la mayor parte del flujo de nutrientes. Debido a la importancia de los microorganismos para los ecosistemas, han sido objeto de estudios como diversidad vegetal, reguladores de productividad y dinámica de poblaciones (Haldar and Nazareth, 2018). La identificación de microorganismos que contribuyan a aumentar la tolerancia de las plantas a condiciones climáticas y que puedan aumentar la productividad de los manglares en condiciones naturales es esencial, así como aquellos que puedan servir como indicadores de cambios en el ecosistema del manglar (Castañeda and Barbosa, 2017).

La necesidad de entender los procesos que ocurren en los suelos ha llevado al desarrollo de métodos para medir aspectos como producción de gases, efecto de invernadero y neutralización de contaminantes; para así determinar la taxonomía y funcionalidad de bacterias. Desde inicios de la década de 1990 se detectaron limitaciones en el estudio de los microorganismos cultivables. No fue hasta la introducción de las técnicas basadas en ácidos nucleicos que se realizaron las primeras comparaciones en composición de comunidades microbianas mediante el análisis cuantitativo de ácidos grasos de fosfolípidos (PLFA). Posteriormente se empleó el análisis de perfiles metabólicos que permitió conocer la estructura y potenciales aspectos funcionales de la comunidad bacteriana (XUE *et al.*, 2008). Los análisis basados en secuencias de 16S rRNA ribosomal proporcionan información taxonómica o filogenética y deben ser complementados con estudios fisiológicos y metagenómicos que proporcionan un panorama más amplio de la funcionalidad de los microorganismos en los suelos (Castañeda and Barbosa, 2017).

A la fecha, los estudios metagenómicos realizados en manglares son escasos y la mayoría de estos son de estudios en manglares del continente asiático (Basak *et al.*, 2015)(Halдар and Nazareth, 2018)(Li *et al.*, 2019)(Zhao *et al.*, 2019). A pesar de la diversidad de factores de los diferentes manglares que se han estudiado, se han encontrado consistencias en la presencia de los filos predominantes en sedimento de manglar: Proteobacteria seguido de Chloroflexi y Acidobacteria.

3.4. Manglares de la Bahía de Panamá

Panamá se ha convertido en un punto importante en América Central para la conservación y el manejo de los manglares; su topografía, el clima y las condiciones oceánicas a lo largo del istmo dan lugar a gran variedad de especies de manglares tanto en las costas del Pacífico como en el Caribe. Panamá cuenta con 172,000 hectáreas de bosque de manglar de los cuales alrededor de 166,000 hectáreas se encuentran en la costa del Pacífico (Bulow *et al.*, 2013).

Los humedales de la bahía de Panamá incluyen 297 km² de manglares, aproximadamente 21% de la cobertura total. La bahía de Panamá se encuentra entre Panamá La Vieja, al este de la ciudad de Panamá, hasta el golfo de San Miguel en la provincia de Darién, extendiéndose más allá de la bahía de Panamá dentro del golfo de Panamá incluyendo la costa del Pacífico de la provincia de Panamá. Al sur se encuentra la línea de contorno de profundidad de 20m (66 pies) y al norte el Área Protegida Refugio de Vida Silvestre Humedal Bahía de Panamá, declarada por la ANAM en el año 2009 (Kaufmann, 2012).

Los manglares de la bahía de Panamá contienen las siguientes especies de mangle: mangle caballero (*Rhizophora racemosa*), mangle rojo o colorado (R. mangle), mangle negro (*Avicennia germinans*), mangle salado (*A. bicolor*), mangle blanco (*Laguncularia racemosa*), mangle botón (*Conocarpus erectus*) y mangle piñuelo (*Pelliciera rhizophorae*). El dosel de los manglares en el área puede alcanzar los 40 m de altura en algunos tramos del estuario del río Bayano, donde la alta carga de sedimentos y la salinidad moderada contribuyen a un crecimiento óptimo de los mangles. Estos bosques están dominados por mangle rojo (*Rhizophora racemosa*), de 30 a 40 m que están entre los arboles de manglar

más altos del mundo; mientras que las áreas menos salinas están dominadas por mangle negro (*Avicennia germinans*) y mangle blanco (*Laguncularia racemosa*) que alcanzan entre 15 a 20 m (Kaufmann, 2012).

Los manglares representan el 5,6% de la cubierta forestal de Panamá. La destrucción continua de los manglares en Panamá libera grandes cantidades de carbono perjudiciales a la atmósfera y causa la desaparición del hábitat de numerosas especies que dependen de estos bosques para sobrevivir (Kaufmann, 2012).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Área de estudio

Muestras de suelo de manglar fueron colectadas en dos sitios en la Bahía de Panamá: Juan Díaz (JD) y Bayano (B) (Fig. 1).



Figura 1. Sitios de muestreo en Panamá.

Los sitios de estudio se detallan a continuación:

4.1.1. Bayano

Situado en la desembocadura del río Bayano, a $9^{\circ}01'32.2''$ N, $79^{\circ}05'59.4''$ O, sitio de manglar rural, está dominado por especies de plantas de mangle *Laguncularia racemosa* y *Rhizophora mangle*. El manglar de Bayano, se encuentra aproximadamente a 30 km al este de Juan Díaz, se caracteriza por bajos niveles de polución en relación al otro sitio (Juan Díaz) y no está rodeado por desarrollo urbano (Suman 2014, Becker *et al.*, 2015).



Figura 2. Áreas de manglar en Bayano.

4.1.2. Juan Díaz

Situado en la desembocadura del río Juan Díaz, a $9^{\circ}00'47.5''$ N, $79^{\circ}27'13.2''$ O, sitio de manglar urbano en la Ciudad de Panamá, con presencia de especies de plantas de manglar *Avicennia bicolor*, *Avicennia germinans*, *Laguncularia racemosa*, *Pellicera rhizophorae* y *Rhizophora mangle*. El manglar de Juan Díaz se caracteriza por tener presencia de desarrollo urbano en sus alrededores, altos niveles de polución urbana debido al manejo ineficiente de las aguas residuales y la presencia de gran cantidad de basura (incluyendo plásticos y metales) (Kaufmann, 2012). La autoridad del Ambiente de Panamá reportó índice de calidad de agua en la desembocadura del río Bayano de ser aceptable con niveles de oxígeno disuelto arriba del mínimo recomendado mientras que la desembocadura del río Juan Díaz estaba contaminada y con niveles de oxígeno disuelto debajo del mínimo recomendado (ANAM, 2013).



Figura 3. Áreas de manglar en Juan Díaz.

4.2. Recolección de muestras

Se realizó una colecta de muestras en el manglar de Bayano y cuatro visitas de colectas en el manglar de Juan Díaz. Las muestras de suelo se colectaron a 10 cm de profundidad utilizando una sonda de suelo. Todas las muestras se colocaron en bolsas de plástico estériles individuales (Nasco Whirl-Pak™) y se transportaron en hielo al laboratorio donde se congelaron y almacenaron a -20 °C. A cada muestra colectada se le anotó en campo la siguiente información: número de identificación, fecha y espécimen de planta a la cual se encontró asociada. Se recogieron un total de 59 muestras de suelo. Se recolectaron nueve muestras en Bayano (9 en mayo de 2019) y 50 muestras en Juan Díaz (14 en diciembre de 2017, 13 en febrero de 2018, 14 en mayo de 2018 y 9 en enero de 2019). Las dos localidades se caracterizan por una marcada estacionalidad, con una estación húmeda

(lluviosa) desde mayo hasta mediados de diciembre y una estación seca desde mediados de diciembre hasta mediados de mayo (Paton, 2017).

4.3. Trabajo molecular

El ADN total de las muestras de suelo se extrajo con el kit de aislamiento de ADN PowerLyzer PowerSoil (MoBio® Laboratories Inc., Carlsbad, CA), utilizando 0,25 g de cada muestra de suelo y siguiendo el protocolo del fabricante, con suspensión final en 100 μ L de tampón de elución Tris 10 mM. El ADN extraído se cuantificó y se evaluó la calidad con el espectrofotómetro Thermo Scientific NanoDrop™ 2000/2000c, utilizando 1 μ L de cada muestra.

4.4. Amplificación de ADN

Para caracterizar las comunidades bacterianas en las muestras de suelo de manglar, se amplificó por PCR y luego fue secuenciado masivamente un fragmento del gen 16S rDNA utilizando la tecnología de secuenciación por síntesis (SBS) de Illumina (Illumina, San Diego, CA). Específicamente, se usaron cebadores 16S rDNA (515F y 806R) (Bokulich *et al.*, 2018) para amplificar la región V4, que es una de las regiones más efectivas de este gen para evaluar la diversidad bacteriana. Las reacciones de amplificación (PCR) se prepararon por triplicado, cada una en un volumen de 25 μ L, que contenía 14,9 μ L de agua libre de nucleasas, 6,6 μ L de Taq PCR Master Mix (Qiagen, Valencia, CA), 1,25 μ L de 10 μ M de cada cebador (515F - 806R) que contenía adaptadores de Illumina y 1 μ L de extracto de ADN (a 25 ng/ μ L). Las amplificaciones se realizaron en un termociclador Applied Biosystems™ 2720 con las siguientes condiciones de PCR: un paso de desnaturalización de 94 °C durante 3 min, seguido de 35 ciclos de

desnaturalización a 94 °C durante 45 s, hibridación a 50 °C durante 1 min y elongación a 72 °C durante 1,5 min, seguida de una extensión final de 10 min a 72 °C. Se evaluaron alícuotas de 2 µL de los productos de PCR en un gel de agarosa para verificar la amplificación.

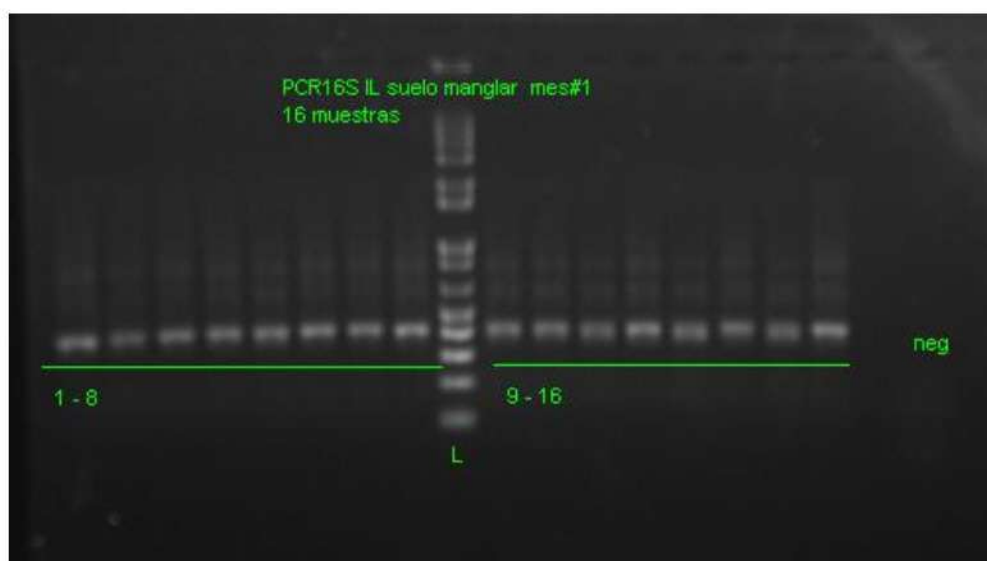


Figura 4. Ejemplo de electroforesis de producto de PCR1 usando los cebadores (515F - 806R), producto de 1000 pb.

4.5. Preparación de la biblioteca de ADN

Los triplicados de amplicón de cada muestra se agruparon para realizar una segunda PCR para agregar índices de código de barras y adaptadores de Illumina, en reacciones de 25 µL, usando 14,75 µL de agua libre de ADNasa, 6,25 µL de Taq PCR Master Mix (Qiagen, Valencia, CA), 1 µl de cada cebador de índice (directo y reverso) y 2 µl de producto de PCR agrupado. La reacción de PCR inició con un paso de desnaturalización a 94°C por 3 min, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94°C, por 45 min, hibridación a 50°C por 1 min, y elongación a 72°C por 1min 30 s, y finalizando con una elongación final de 10 min a 72 °C. Se tomaron 5 µL de

cada amplicón de la segunda PCR, se combinaron en un tubo de microcentrífuga de 1,5 mL y se purificaron utilizando perlas magnéticas AMPURE XP (Beckman Coulter, Indianapolis, IN). La concentración final de la biblioteca de ADN se determinó utilizando un fluorómetro Qubit (Turner BioSystems, Foster City, CA). Se analizó la calidad de la biblioteca de ADN en un instrumento Bioanalyzer 2100 (Agilent, Santa Clara, CA) antes de secuenciarla en un sistema Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, CA) para generar lecturas de extremos emparejados de 2 x 250 pb en Naos Molecular Laboratories del Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI, Panamá).

4.6. Análisis bioinformático

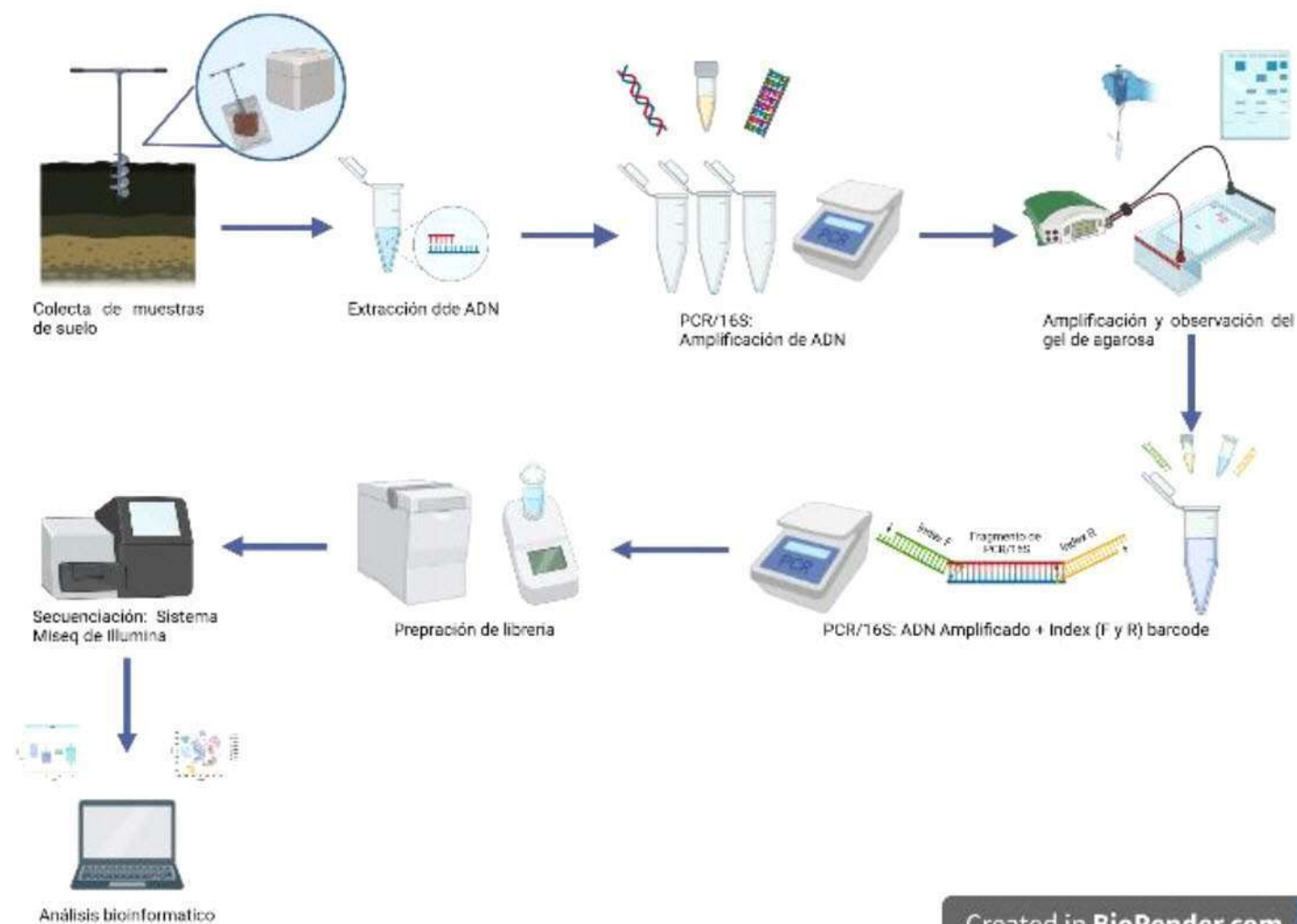
Los datos de las secuencias del sistema Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, CA) se analizaron utilizando la plataforma Quantitative Insights Into Microbial Ecology 2 (QIIME 2.0) para analizar todas las secuencias de ADNr 16S generadas a partir del suelo de manglar (Bokulich *et al.*, 2018). Usamos el algoritmo DADA2 para eliminar errores de secuenciación, junto con la versión 4.1.0 del paquete R (Global (CDN)-Rstudio) (Benjamin J. Callahan *et al.*, 2016) (R Development Core Team., 2010). Se realizó el filtrado de calidad de las secuencias cortando las primeras 20 bases y parando en las secuencias en la base 230 con la herramienta DADA2, que además de realizar los cortes de las secuencias, filtra las secuencias de baja calidad y quimeras. Luego importamos lecturas de alta calidad a QIIME2 para realizar los análisis, se asignó una clasificación taxonómica a las variantes de secuencias de amplicón (ASV, es decir, posibles especies bacterianas) representativas utilizando la base de datos SILVA (v. 138 para bacterias, www.arb-silva.de)

(Nowinski *et al.*, 2019) (Suenami, Konishi Nobu and Miyazaki, 2019). Todos los ASV asignados a secuencias mitocondriales y de cloroplastos se eliminaron del conjunto de datos. Finalmente, todos los archivos de datos generados con QIIME 2 fueron cargados en el software R, para su posterior análisis estadístico (R Development Core Team., 2010)

4.7. Diversidad bacteriana y composición de la comunidad

Seleccionamos muestras con al menos 3000 lecturas antes de realizar análisis de diversidad, observando que este número de lecturas era el mínimo para alcanzar una meseta en las curvas de rarefacción con el conjunto de datos. Luego examinamos las diferencias estadísticas en la abundancia relativa para los rangos de Filo, Clase, y Género entre sitios, y a lo largo del tiempo en Juan Díaz, usando un análisis discriminante lineal del tamaño del efecto LDA (LEfSe) con un valor de > 2 y $p < 0.05$ como significativo tal como se implementa en la plataforma web de MicrobiomeAnalyst (<https://www.microbiomeanalyst.ca/MicrobiomeAnalyst/upload/OtuUploadView.xhtml>) (Dhariwal *et al.*, 2017) (Chong *et al.*, 2020)). También evaluamos cambios potenciales en la composición de la comunidad bacteriana en el período de transición de estación lluviosa a estación seca y luego a lluviosa en el sitio Juan Díaz. A continuación, estimamos la diversidad alfa en función de los ASV, aquí, calculamos el índice de diversidad filogenética de Faith (PD of Faith), seguido de Kruskal-Wallis no paramétrico para examinar las diferencias entre sitios y meses en Juan Díaz. Luego cuantificamos la diversidad beta entre sitios y meses en Juan Díaz usando distancias UniFrac ponderadas, y evaluamos la significancia estadística usando análisis ANOSIM (corroborado con PERMANOVA) con

999 permutaciones para cada análisis en el paquete vegano de R (CLARKE, 1993) (Oksanen *et al.*, 2013). Visualizamos la diversidad beta con el Análisis de coordenadas de principio (PCoA) en los paquetes de R phyloseq y ggplot2 (Lim *et al.*, 2008) (Ben J. Callahan *et al.*, 2016). Finalmente, se visualizó el número de ASV bacterianos compartidos y únicos entre sitios y meses en Bayano y Juan Díaz, utilizando diagramas de Venn, con el paquete Venn Diagram (Allard *et al.*, 2020).

**Figura 5.** Metodología utilizada

Cuadro 1. Lista de muestras usadas en análisis bioinformático presentado en este trabajo.

Muestras	Lugar	Día de colecta	Planta asociada a la muestra	Sustrato
191-1	Juan Diaz	dic-17	<i>P. rhizophorae</i>	Soil
192-1	Juan Diaz	dic-17	<i>A. bicolor</i>	Soil
193-1	Juan Diaz	dic-17	<i>L. racemosa</i>	Soil
194-1	Juan Diaz	dic-17	<i>P. rhizophorae</i>	Soil
195-1	Juan Diaz	dic-17	<i>A. germinans</i>	Soil
196-1	Juan Diaz	dic-17	<i>R. mangle</i>	Soil
197-1	Juan Diaz	dic-17	<i>A. bicolor</i>	Soil
199-1	Juan Diaz	dic-17	<i>R. mangle</i>	Soil
1910-1	Juan Diaz	dic-17	<i>R. mangle</i>	Soil
1911-1	Juan Diaz	dic-17	<i>A. germinans</i>	Soil
1912-1	Juan Diaz	dic-17	<i>A. bicolor</i>	Soil
1913-1	Juan Diaz	dic-17	<i>R. mangle</i>	Soil
1914-1	Juan Diaz	dic-17	<i>P. rhizophorae</i>	Soil
1915-1	Juan Diaz	dic-17	<i>L. racemosa</i>	Soil
191-2	Juan Diaz	feb-18	<i>P. rhizophorae</i>	Soil
192-2	Juan Diaz	feb-18	<i>A. bicolor</i>	Soil
193-2	Juan Diaz	feb-18	<i>L. racemosa</i>	Soil
195-2	Juan Diaz	feb-18	<i>A. germinans</i>	Soil
196-2	Juan Diaz	feb-18	<i>R. mangle</i>	Soil
197-2	Juan Diaz	feb-18	<i>A. bicolor</i>	Soil
199-2	Juan Diaz	feb-18	<i>R. mangle</i>	Soil
1910-2	Juan Diaz	feb-18	<i>R. mangle</i>	Soil
1911-2	Juan Diaz	feb-18	<i>A. germinans</i>	Soil
1912-2	Juan Diaz	feb-18	<i>A. bicolor</i>	Soil
1913-2	Juan Diaz	feb-18	<i>R. mangle</i>	Soil
1914-2	Juan Diaz	feb-18	<i>P. rhizophorae</i>	Soil
1915-2	Juan Diaz	feb-18	<i>L. racemosa</i>	Soil
191-3	Juan Diaz	may-18	<i>P. rhizophorae</i>	Soil
192-3	Juan Diaz	may-18	<i>A. bicolor</i>	Soil
193-3	Juan Diaz	may-18	<i>L. racemosa</i>	Soil
194-3	Juan Diaz	may-18	<i>P. rhizophorae</i>	Soil
195-3	Juan Diaz	may-18	<i>A. germinans</i>	Soil
196-3	Juan Diaz	may-18	<i>R. mangle</i>	Soil
197-3	Juan Diaz	may-18	<i>A. bicolor</i>	Soil
199-3	Juan Diaz	may-18	<i>R. mangle</i>	Soil
1910-3	Juan Diaz	may-18	<i>R. mangle</i>	Soil
1911-3	Juan Diaz	may-18	<i>A. germinans</i>	Soil
1912-3	Juan Diaz	may-18	<i>A. bicolor</i>	Soil
1913-3	Juan Diaz	may-18	<i>R. mangle</i>	Soil
1914-3	Juan Diaz	may-18	<i>P. rhizophorae</i>	Soil
1915-3	Juan Diaz	may-18	<i>L. racemosa</i>	Soil
191-4	Juan Diaz	ene-19	<i>P. rhizophorae</i>	Soil
192-4	Juan Diaz	ene-19	<i>A. bicolor</i>	Soil
194-4	Juan Diaz	ene-19	<i>P. rhizophorae</i>	Soil
195-4	Juan Diaz	ene-19	<i>A. germinans</i>	Soil
196-4	Juan Diaz	ene-19	<i>R. mangle</i>	Soil
197-4	Juan Diaz	ene-19	<i>A. bicolor</i>	Soil
199-4	Juan Diaz	ene-19	<i>R. mangle</i>	Soil
1910-4	Juan Diaz	ene-19	<i>R. mangle</i>	Soil
1911-4	Juan Diaz	ene-19	<i>A. germinans</i>	Soil
191-5	Darien	may-19	<i>L. racemosa</i>	Soil
192-5	Darien	may-19	<i>L. racemosa</i>	Soil
193-5	Darien	may-19	<i>R. mangle</i>	Soil
194-5	Darien	may-19	<i>R. mangle</i>	Soil
195-5	Darien	may-19	<i>R. mangle</i>	Soil
196-5	Darien	may-19	<i>L. racemosa</i>	Soil
197-5	Darien	may-19	<i>L. racemosa</i>	Soil
199-5	Darien	may-19	<i>R. mangle</i>	Soil
1910-5	Darien	may-19	<i>L. racemosa</i>	Soil

V. RESULTADOS

5.1. Estructura y composición de las comunidades bacterianas

En el muestreo de suelo realizado en los manglares Bayano y Juan Díaz se obtuvo un total de 59 muestras, se generaron un total de 2,628,200 lecturas de ADN en ambos sitios (por muestra Mínimo = 3,618; Mediana = 37,302; Máximo = 163,991; Media = 44,545). Una vez realizado el filtrado de calidad de las secuencias se obtuvieron un total de 20,691 variantes de secuencias de amplicones (ASV) en las muestras de los dos sitios. La asignación taxonómica global de los sitios de estudio dio como resultado un total de 75 filos, 197 clases, 471 órdenes, 746 familias y 1323 géneros.

Los filos más representativos (aquellos que tuvieron una abundancia mayor al 5%) fueron 11 representando alrededor del 85% de la abundancia. El resto, 64 de los filos se encontraron en bajas abundancias representando cerca del 15% de los filos. Los filos de mayor abundancia fueron Proteobacteria (B: 33,83%, JD: 29,11%), seguido por Desulfobacterota (B: 13,69%, JD: 8,34%) compuesto por bacterias sulfato reductoras y recientemente separado de Proteobacteria (Waite *et al.*, 2020); el tercer grupo más abundante fue Chloroflexi (B: 8,78%, JD: 11,45%). Las bacterias sulfato reductoras, presentaron mayores abundancias en las muestras del sistema de manglar de Juan Díaz, con respecto a las muestras del sistema de manglar conservado (Figura 5A). El análisis LDA mostró que el único Phylum con diferencias significativas entre sitios fue Bacteroidota ($p < 0.01$).

A nivel de Clase las más abundantes fueron Gammaproteobacteria (B: 21,46%, JD: 14,58%), Alphaproteobacteria (B: 11,65%, JD: 14,46%) y Anaerolineae (B: 6,56%, JD: 8.86 %) (Figura 5B). El análisis LDA mostró que las clases más dominantes con

diferencias significativas entre sitios fueron Acidimicrobia, Actinobacteria y BD2-11_terrestrial_group ($p < 0.05$).

Los cinco géneros dominantes fueron BD2-11_terrestrial_group (B: 1,68 %, JD: 2,61 %), EPR3968-O8a-Bc78 (B: 1,87 %, JD: 2,38 %), *Salinimicrobium* (B: 0,30, JD: 0,88), *Sulfurovum* (B: 0,56 %, JD: 2,14 %) y *Woeseia* (B: 1,66 %, JD: 1,04) (Figura 5C). El análisis LDA mostró que los géneros más dominantes con diferencias significativas entre sitios fueron BD2-11_terrestrial_group y *Woeseia* ($p < 0,05$), EPR3968-O8a-Bc78 ($p = 0,01$) y SBR1031 ($p < 0,01$).

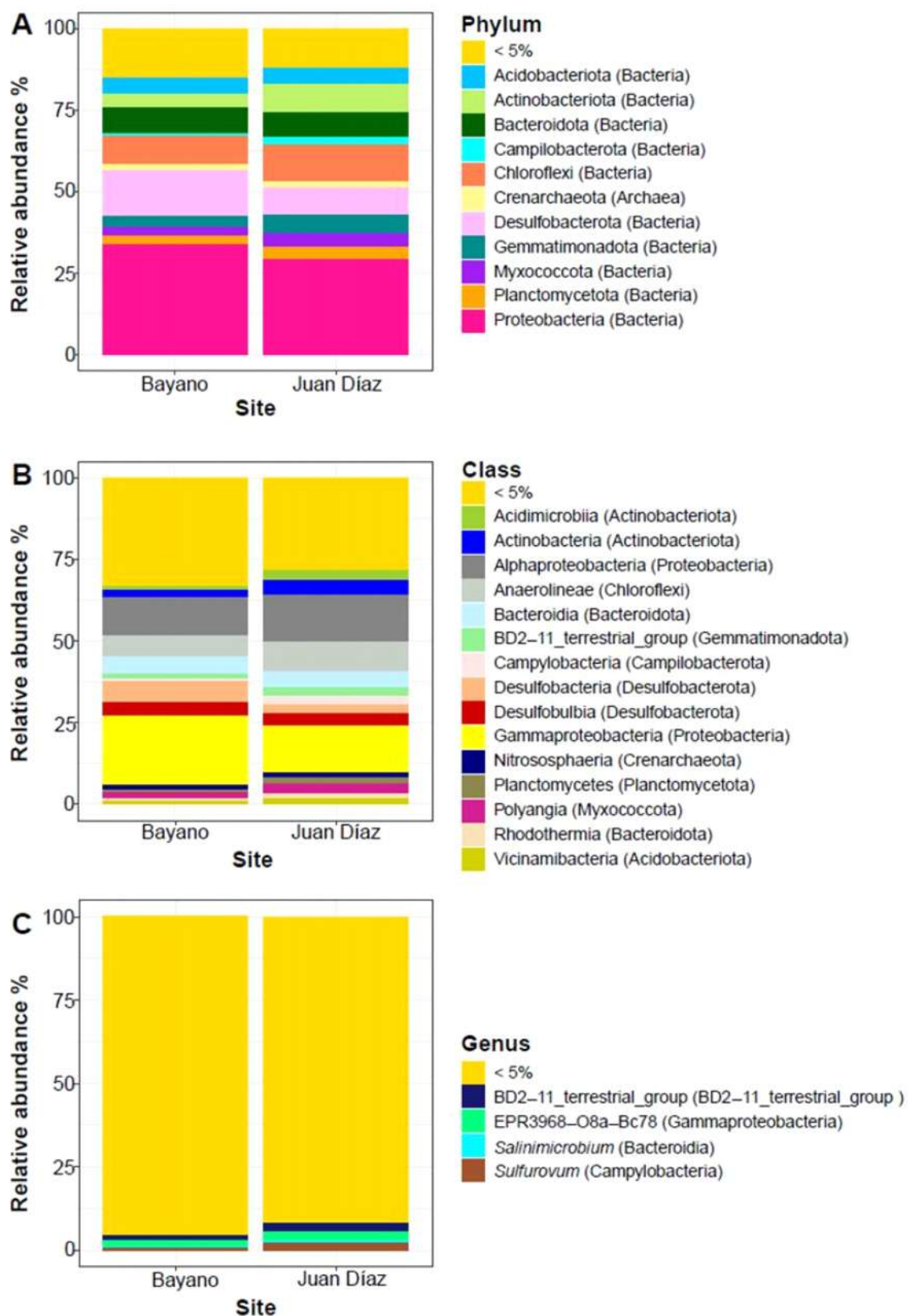


Figura 6. Abundancia relativa de los taxones bacterianos asociados con los manglares de Bayano y Juan Díaz. La abundancia se estimó en el rango de filo (A), clase (B) y género (C).

5.2. Análisis de diversidad alfa y beta

Para los análisis de diversidad alfa y beta se realizó una curva rarefacción a 3000 lecturas por muestra lo suficiente para capturar el mayor número de diversidad de bacterias (Anexo).

Los análisis de diversidad alfa mostraron diferencias significativas entre sitios (Kruskal-Wallis: $X^2 = 14,88$, $p < 0,001$), y Bayano mostró mayor diversidad bacteriana en general. La diversidad beta también varió significativamente entre sitios (estadístico ANOSIM: $R = 0,46$, $p = 0,001$; prueba ADONIS: $R^2 = 0,07$, $p < 0,001$). Finalmente, los dos sitios compartieron solo 7.7 % de filotipos y Juan Díaz mostró casi tres veces más filotipos únicos que Bayano.

Los análisis de diversidad alfa mostraron diferencias significativas entre meses en Juan Díaz (Kruskal-Wallis: $H = 18.64$, $p = 0.001$), mostrando que diciembre 2017 presentó la mayor diversidad bacteriana después febrero 2018 y mayo 2018 (Figura 6G). La prueba de rango con signos de Wilcoxon mostró diferencias significativas entre diciembre 2017 y febrero 2018 y entre febrero 2018 y mayo 2018 (figura 6G).

La diversidad beta mostró diferencias significativas en el total de comunidades entre todos los meses (Estadístico ANOSIM: $R = 0.59$, $p < 0.001$; Prueba ADONIS: $R^2 = 0.14$, $p < 0.001$) (Figura 6H). En cuanto a la distribución de filotipos únicos en Juan Díaz, encontramos el siguiente patrón: 23,4 % de filotipos únicos para diciembre 2017, 28,6 % en febrero 2018 y 25,7 % en mayo 2018 (Figura 7D). Se observó más filotipos compartidos 21,4 % entre diciembre 2017 y mayo 2018 considerado como época de lluvias (Figura 7D). También se observó un menor número de filotipos compartidos entre los tres meses comparados (0,5 %), y entre febrero 2018 y mayo 2018 (0,3 %) (Figura 7D).

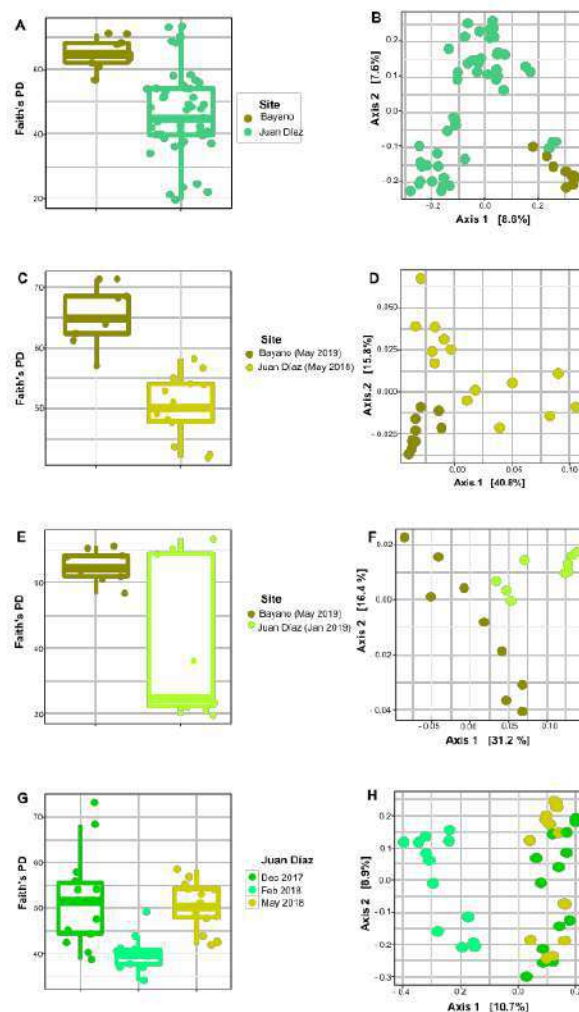


Figura 7. La diversidad filogenética es mayor en el sitio de manglar rural y menos contaminado de Bayano que en el sitio urbano de Juan Díaz; y los cambios a través del tiempo fueron mayores en la estación lluviosa (diciembre y mayo) que en la estación seca (febrero). Diversidad alfa basada en la diversidad filogenética de Faith para cada sitio (A). PCoA basado en la distancia Unifrac no ponderada para los dos sitios (B). Diversidad alfa basada en la diversidad filogenética de Faith para los dos sitios utilizando datos de un mes en diferentes años (C). PCoA basado en la distancia Unifrac no ponderada para los dos sitios utilizando datos de un mes en diferentes años (D). Diversidad alfa basada en la diversidad filogenética de Faith para cada sitio usando datos de un mes en el mismo año (E) PCoA basada en la distancia Unifrac no ponderada para los diferentes sitios usando datos de un mes en el mismo año (F), Diversidad alfa basada en los datos de Faith Diversidad filogenética para diferentes meses en el sitio Juan Díaz (G) PCoA basado en distancia Unifrac no ponderada para diferentes meses en el sitio Juan Díaz (H).

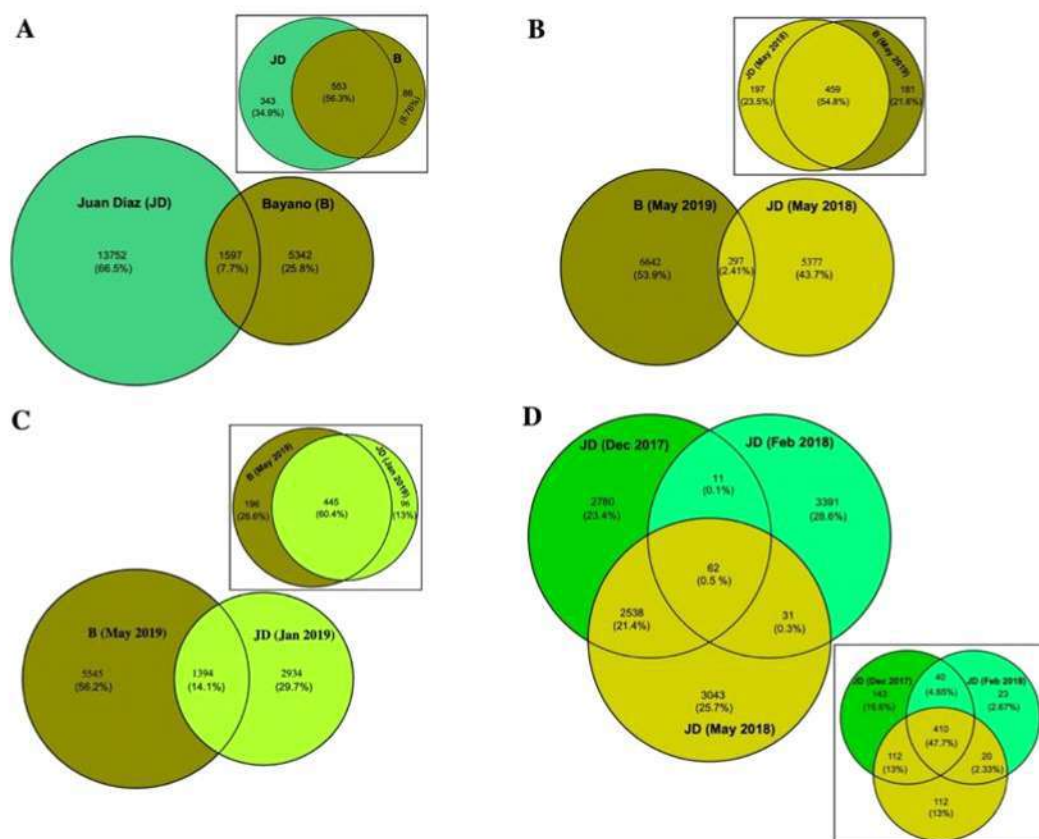


Figura 8. Diagrama de Venn del número (valores enteros) y porcentaje (entre paréntesis) de ASV y géneros únicos y compartidos (parcelas internas dentro de cuadrados) entre sitios. Comparación utilizando todo el conjunto de datos (A). Comparación con datos de un mes (misma temporada) en diferentes años (B), Comparación con datos de un mes (diferentes temporadas) en el mismo año (C), Comparación de diferentes meses en Juan Díaz (D).

5.3. Efectos de la estacionalidad en la composición de la comunidad bacteriana en Juan Díaz

Se encontró que el 97,82 % y el 2,17 % de los ASV eran bacterias y arqueas respectivamente para el sitio JD. Los cuatro filos dominantes fueron Actinobacteria (diciembre 2017: 9,49 %, febrero 2018: 7,52 %, mayo 2018: 7,38 %), Chloroflexi (diciembre 2017: 9,96 %, febrero 2018: 11,58 %, mayo 2018: 10,88 %), Desulfobacterota (diciembre 2017: 11,14 %, febrero 2018: 8,52 %, mayo 2018: 5,05 %) y Proteobacteria (diciembre 2017: 27,85 %, febrero 2018: 30,36 %, mayo 2018: 30,70 %) (Figura 8G). El análisis LDA mostró que los filos más dominantes con diferencias

significativas entre meses fueron Acidobacteriota, Bacteroidota, Crenarchaeota y Myxococcota ($p < 0.001$) y Desulfobacterota ($p < 0.05$).

Se encontró que las tres clases dominantes fueron Alphaproteobacteria (diciembre 2017: 14,16 %, febrero 2018: 14,85 %, mayo 2018: 14,69 %), Anaerolineae (diciembre 2017: 7,50 %, febrero 2018: 8,55 %, mayo 2018: 8,75 %) y Gammaproteobacteria (diciembre 2017: 13,68 %, febrero 2018: 15,36 %, mayo 2018: 15,97 %) (Figura 8H).

El análisis LDA mostró que las clases más dominantes con diferencias significativas entre meses fueron Acidimicrobia y Desulfobulbia ($p = 0,001$), Actinobacteria y Bacteroidia, BD2-11_terrestrial_group ($p < 0,001$), Gammaproteobacteria y Polyangia ($p < 0,01$) y Alphaproteobacteria y Desulfobacteria ($p < 0,05$).

Se encontró que los tres géneros dominantes fueron BD2-11_terrestrial_group (diciembre 2017: 2,12 %, febrero 2018: 2,66 %, mayo 2018: 2,97 %), EPR3968-O8a-Bc78 (diciembre 2017: 2,11 %, febrero 2018: 2,57 %, mayo 2018: 2,69 %), y *Salinimicrobium* (diciembre 2017: 0,18 %, febrero 2018: 0,06 %, mayo 2018: 2,57 %) y *Sulfurovum* (diciembre 2017: 3,42 %, febrero 2018: 2,05 %, mayo 2019: 1,67 %) (Figura 8I). El análisis LDA mostró que los filos más dominantes con diferencias significativas entre meses fueron BD2-11_terrestrial_group, EPR3968-O8a-Bc78, *Salinimicrobium*, *Methyloceanibacter* y Subgroup_10 ($p < 0.001$), Biri41 y MBNT15 ($p < 0.05$).

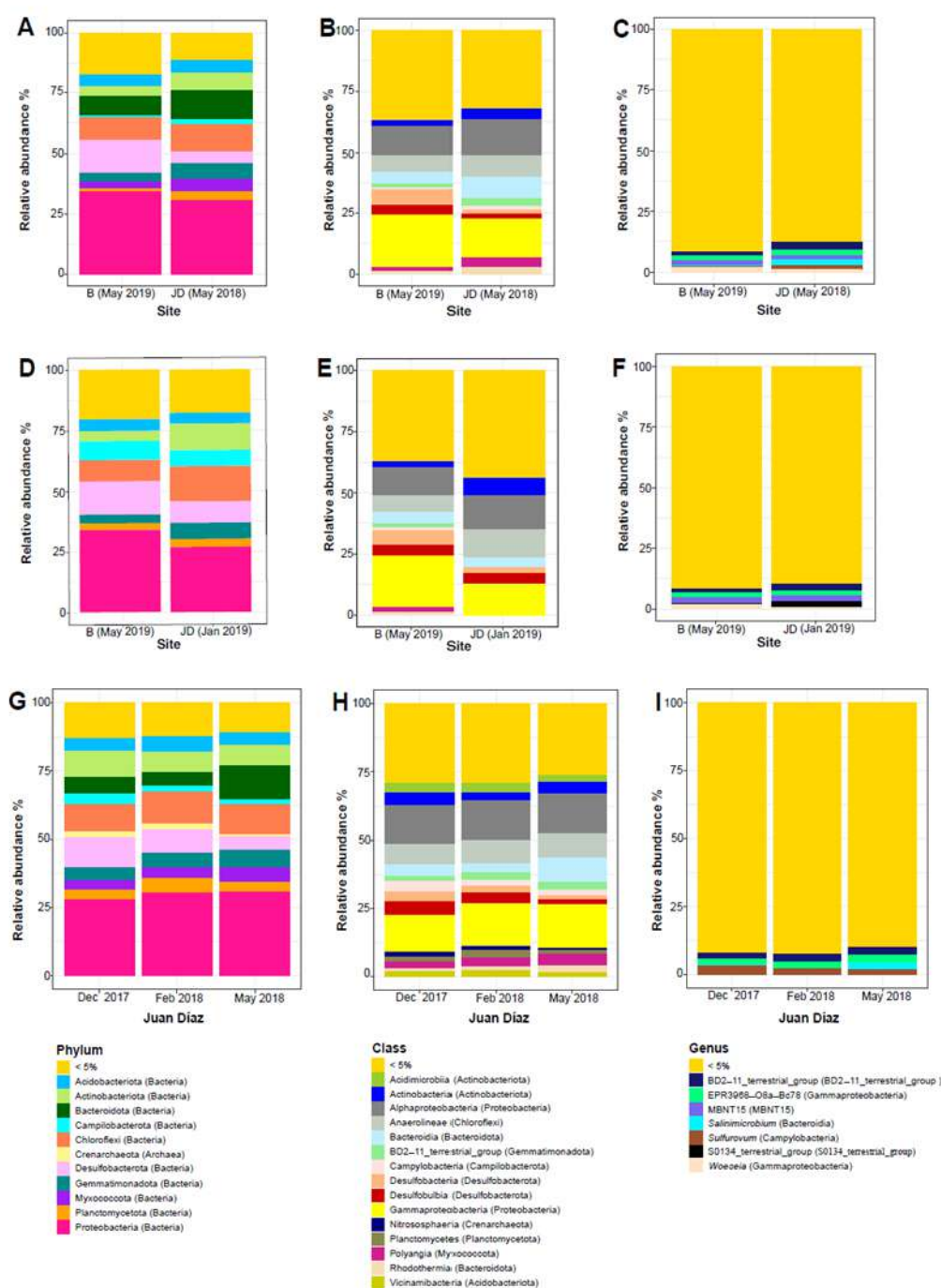


Figura 9. Abundancia relativa de los taxones bacterianos más comunes en los dos sitios de manglar, Bayano (B) y Juan Díaz (JD), en diferentes momentos y estaciones. Bayano y JD compararon en un mes de época lluviosa de diferentes años (A, B, C); Bayano en un mes de lluvia en comparación con JD en un mes de sequía (D, E, F); y diferentes puntos de tiempo en JD en la transición de la estación lluviosa (diciembre de 2017) a la estación seca (febrero de 2018) a la estación lluviosa (mayo de 2018). La abundancia se estimó en los rangos de phylum (A, D, G), clase (B, E, H) y género (C, F, I).

VI. DISCUSIÓN

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

Los ecosistemas de manglar están amenazados en todo el mundo por varios factores, incluido el desarrollo costero, la contaminación y el aumento del nivel del mar. Estas condiciones estresantes afectan la estructura y el funcionamiento de las comunidades que viven en estos ecosistemas, así como las poblaciones humanas (Peixoto *et al.*, 2011) (Thatoi *et al.*, 2013)(Cabral *et al.*, 2016)(Feller *et al.*, 2017)(Waite *et al.*, 2017) (Saintilan *et al.*, 2020). Sin embargo, el efecto de estos factores sobre las comunidades bacterianas del suelo de los manglares y su dinámica temporal se desconoce en gran medida, particularmente en el Neotrópico. Exploramos la composición taxonómica de las comunidades bacterianas en los suelos de manglares de dos sitios con composición de vegetación, desarrollo costero y niveles de contaminación contrastantes en la Bahía de Panamá. También exploramos cambios temporales en la composición de la comunidad bacteriana en Juan Díaz, el sitio de manglar urbano altamente contaminado, en la transición de estación lluviosa a seca y luego a lluviosa. En general, encontramos que la diversidad y la abundancia relativa de taxones bacterianos dominantes asociados a los suelos de manglares variaron entre los dos sitios de manglares con niveles de contaminación contrastantes. Se encontró una mayor diversidad filogenética bacteriana

en el sitio menos contaminado, a pesar de la menor cantidad de muestras recolectadas de esta localidad en relación con el sitio altamente contaminado.

Las dos localidades de manglar estudiadas mostraron alta diversidad, al encontrarse 75 phyla pertenecientes a los dominios de Bacterias y Archaea. Esta alta diversidad se atribuye a que las comunidades microbianas en el sedimento de manglar están compuestas por microorganismos provenientes de suelos terrestres, marinos y cuerpos de agua dulce (Holguin, Vazquez and Bashan, 2001).

Los tres filos dominantes de bacterias encontrados en este estudio en orden de abundancia fueron Proteobacteria, Desulfobacterota y Chloroflexi, que junto con Acidobacteriota, que también se encontró en gran abundancia, se habían considerado previamente como las comunidades procariotas centrales en los sedimentos de manglares; no obstante, el phylum que mostró diferencias significativas en la abundancia relativa entre los sitios fue Bacteroidota, con una abundancia ligeramente mayor en el sitio menos contaminado. Este phylum es de suma importancia en la degradación de la materia orgánica (Hug *et al.*, 2013) (Zhang *et al.*, 2021).

El phylum Proteobacteria se presentó en mayor abundancia en ambos sitios. Este resultado concuerda con estudios realizados en manglares alrededor del mundo, en los que Proteobacteria es reportado como el phylum más abundante lo cual puede ser explicado por su enorme diversidad a nivel fisiológico y metabólico, además de ser el taxón que cuenta con el mayor número de especies descritas (Kersters *et al.*, 2006) (Jiang *et al.*, 2013)(Dourado *et al.*, 2012)(Li *et al.*, 2019). El phylum Proteobacteria está involucrado en funciones relacionadas con ciclo de carbono, nitrógeno y azufre, predominando en muestras de suelo terrestre y marinas (Spain, Krumholz and Elshahed, 2009). Estudios anteriores en manglares tropicales contaminados con metales pesados,

han considerado los phylum Proteobacteria y Desulfobacterota como indicadores de procesos de desintoxicación del ecosistema (Cabral *et al.*, 2016).

El phylum Desulfobacterota ocupó el segundo lugar en abundancia y es conocido por incluir organismos capaces de realizar la reducción de compuestos del azufre. Sin embargo, con el uso de técnicas metagenómicas se ha descrito su potencial para degradar hidrocarburos, participar en el ciclo del hidrógeno, producir metilmercurio y llevar a cabo deshalogenación reductiva, jugando un papel esencial en los ciclos del carbono, del azufre y en el reciclaje de diversos nutrientes (Arbeli, 2009)(Langwig *et al.*, 2022).

En esta investigación el tercer Phylum más abundante fue Chloroflexi. Existen pocos datos sobre su importancia fisiológica y ecológica. La mayor abundancia de este Phylum pertenecieron al subphylum Anaerolineae el cual se cree que este juega un papel fundamental en la degradación de proteínas, aminoácidos y ácidos grasos en sedimentos marinos (Cruaud *et al.*, 2015). Contrario a lo esperado, la distribución del Phylum Acidobacteriota mostró una distribución homogénea, sin que sus abundancias hayan aumentado en el sistema de manglar. Este phylum comprende organismos fisiológicamente diversos, involucrados en el ciclo del carbono y del nitrógeno, se reporta sensible a cambios en la concentración de nutrientes, pH del medio, y con alta versatilidad en el uso de fuentes de carbono (Kielak *et al.*, 2016).

Las tres clases dominantes de bacterias encontradas en este estudio fueron alfa-Proteobacteria, gamma-Proteobacteria y Anaerolineae (Chloroflexi). No obstante, las Clases con diferencias significativas en abundancia relativa entre sitios fueron Acidimicrobiia y Actinobacteria (Actinobacteriota), y BD2-11_terrestrial_group (Gemmatimonadota), todas ellas con mayor abundancia en la localidad altamente contaminada. La Clase Acidimicrobiia ha sido reportada como un taxón abundante en

ambientes acuáticos, lodos de aguas residuales y ambientes marinos; las Actinobacterias son diversas y se encuentran comúnmente como habitantes del suelo y BD2-11_terrestrial_group se ha encontrado en sedimentos marinos, asociado a invertebrados marinos como las esponjas y la presencia de fósforo en el suelo (Kerou *et al.*, 2016) (Mujakić, Piwosz and Koblížek, 2022). También encontramos que la Clase Nitrosphaeria, perteneciente a las Archaea que oxida el amoníaco, se encontraba entre las 10 más abundantes en este estudio y se considera que son actores clave en los ciclos globales de nitrógeno y carbono (Huergo *et al.*, 2018).

La clase perteneciente a Chloroflexi con abundancia mayor al 5% está representada por Anaerolineae SBR1031 y es una clase que se encuentra aquí en gran abundancia y que anteriormente se informó que estaba asociada a la rizosfera (Allard *et al.*, 2020). Una posibilidad que debe explorarse es que estos taxones podrían estar desempeñando un papel en la tolerancia al estrés salino en las especies de plantas de manglares que se encontraban en los sitios muestreados en este estudio. Los grupos taxonómicos con cambios en la abundancia relativa en la transición de la estación húmeda a la seca fueron BD2-11_terrestrial_group, EPR3968-O8a-Bc78, dos taxones que también variaron en abundancia relativa entre las dos localidades, lo que sugiere que estos taxones son muy sensibles a los cambios ambientales.

Los géneros dominantes de bacterias que se presentaron en los dos sitios de manglares fueron: BD2-11_terrestrial_group (Gemmatimonadota), EPR3968-O8a-Bc78 (Gammaproteobacteria), Salinimicrobium (Bacteroidetes), Sulfurovum (Campylobacteria) y Woeseia (Gammaproteobacteria). Estos géneros de bacterias son parte del microbioma central de los manglares, se han encontrado asociados con plantas de la rizosfera, ambientes marinos y juegan un papel importante en la descomposición, oxidación y fijación de nutrientes de la materia orgánica (Andreote *et al.*,

2012)(Nogueira *et al.*, 2015)(Kerou *et al.*, 2016)(Mori, Yamaguchi and Hanada, 2018)(Zhang *et al.*, 2021). Por ejemplo, el género BD2-11_terrestrial_group pertenece al filo Gemmatimonadota, que se encuentra en mayor abundancia en la localidad con mayor nivel de contaminación. Curiosamente, este grupo se encontró en mayor abundancia en la localidad más contaminada, dentro de los 2 km de una planta de tratamiento de agua y este taxón se había informado previamente en lodos activados y asociado a plantas de tratamiento de aguas residuales; este género también se encuentra frecuentemente en la rizosfera, asociado a plantas e involucrado en el ciclo del nitrógeno y el carbono (Mujakić, Piwosz and Kobližek, 2022). El EPR3968-O8a-Bc78 también se encontró en mayor abundancia en el sitio con mayor nivel de contaminación y perturbación antropogénica. Se ha informado que los miembros de este taxón están involucrados en la descomposición de la materia orgánica vegetal en los sedimentos costeros tropicales, y también se han considerado patógenos de plantas (Naushad and Gupta, 2013)(Nogueira *et al.*, 2015).

Salinimicrobium y *Sulfurovum* se encontraron en mayor abundancia en la localidad más contaminada. *Sulfurovum* incluye la épsilonproteobacteria quimiolitotrófica oxidante de azufre, que es la principal productora en las comunidades de sedimentos marinos y ha sido descrita como un taxón dominante en los sedimentos del lecho marino; además, este taxón bacteriano participa en la fijación de carbono y nitrógeno, la reducción asimilatoria de nitratos y nitritos, la oxidación de tiosulfatos y la reducción de polisulfuros (Nogueira *et al.*, 2015)(Mori, Yamaguchi and Hanada, 2018)(Zhang *et al.*, 2021). El género *Woeseia* se encontró en mayor abundancia en el sitio menos contaminado. Este género es conocido por su alta versatilidad metabólica, capaz de utilizar diversas fuentes de energía (carbono orgánico, sulfuros, hidrogeno, luz solar) y múltiples estrategias metabólicas (respiración aerobia, fermentación, desnitrificación,

reducción de fumarato, entre otras) (Mai *et al.*, 2021) (Chen *et al.*, 2021). Tanto *Sulfurovum* como *Woeseia*, son bacterias oxidantes de azufre que se ha informado que confieren resistencia al estrés salino a las plantas tolerantes a la sal y que ocurren en su rizosfera en el suelo limoso costero (An *et al.*, 2022).

Otros géneros con cambios significativos fueron *Salinimicrobium* (halófilo), *Methyloceanibacter* (importante en el ciclo del carbono en el océano), Subgroup_10 (biomarcador de la rizosfera), B1rii41 (indicador de humedales) y MBNT15 (habitante común de los sedimentos marinos). Estos taxones con cambios significativos en la abundancia relativa en la transición de la estación lluviosa a la seca incluyen taxones involucrados en el ciclo del nitrógeno, el carbono y el azufre y taxones de importancia potencial para las especies de plantas de manglares para hacer frente al estrés ambiental y la resiliencia a las condiciones climáticas.

En conjunto, nuestro estudio sugiere que la contaminación y un cambio estacional de la estación lluviosa a la estación seca y luego a la lluviosa pueden causar cambios en la diversidad bacteriana y una abundancia relativa de taxones específicos en los suelos de manglares. En particular taxones con roles en los ciclos biogeoquímicos de carbono, nitrógeno, azufre y fósforo, y taxones dominantes en la rizosfera que podrían ser importantes para la resiliencia de las plantas de manglares al estrés ambiental. Otros factores que podrían estar desempeñando un papel en las diferencias en la abundancia relativa de taxones bacterianos del suelo en los dos bosques de manglares muestreados incluyen el aporte de nutrientes y la sedimentación resultantes de los cambios en el uso de la tierra en la cuenca superior de los ríos Juan Díaz y Bayano, pero esto necesita ser explorado. El trabajo experimental futuro con taxones bacterianos seleccionados del suelo de manglares puede ayudar a comprender sus complejas interacciones con este

entorno y darse cuenta de su potencial para ser utilizado en la restauración de ecosistemas de manglares degradados.

VII. CONCLUSIONES

- En el presente trabajo se utilizó la secuenciación de amplicones del gen 16s ARNr en suelo de manglar, lo cual contribuye al conocimiento global de las comunidades bacterianas de sedimentos de manglares urbanos destacando la complejidad y diversidad de comunidades bacterianas.
- La diversidad y la abundancia relativa de los taxones dominantes que componen las comunidades bacterianas de los suelos de manglares estudiados varió entre los dos sitios estudiados, observándose una mayor diversidad filogenética bacteriana en el bosque de manglar rural (Bayano), a pesar del menor número de muestras de esta localidad en relación con el manglar urbano (Juan Díaz).
- Los suelos de manglar de Bayano y Juan Díaz contienen taxones bacterianos dominantes tales como: BD2-11_terrestrial_group (Gemmatimonadota), EPR3968-O8a-Bc78 (Gammaproteobacteria), *Salinimicrobium* (Bacteroidetes), *Sulfurovum* (Campylobacteria) y *Woeseia* (Gammaproteobacteria), representan miembros centrales de la microbiota de los manglares y participan en los ciclos biogeoquímicos del carbono, el nitrógeno, el azufre y el fósforo, y pueden evaluarse experimentalmente para determinar la resiliencia de las especies de mangle al estrés ambiental y la restauración de estos ecosistemas.
- Los resultados obtenidos en este estudio sirven de línea base para futuros trabajos en comunidades bacterianas de suelos de manglar, por ejemplo en la búsqueda de indicadores de estado de conservación en los manglares de nuestro país. Esto junto con el uso de técnicas de mayor resolución funcional ampliarán la comprensión, de los procesos bióticos y abióticos, y permitirá generar estrategias de conservación o restauración en las que se integre el conocimiento

generado sobre las comunidades bacterianas y la aplicación de consorcios para la reforestación de los manglares.

VIII. LITERATURA CONSULTADA

Allard, S.M. *et al.* (2020) 'Introducing the Mangrove Microbiome Initiative: Identifying Microbial Research Priorities and Approaches To Better Understand, Protect, and Rehabilitate Mangrove Ecosystems', *mSystems*, 5(5). Available at: <https://doi.org/10.1128/msystems.00658-20>.

Alongi, D.M. (1988) 'Bacterial productivity and microbial biomass in tropical mangrove sediments', *Microbial Ecology*, 15(1), pp. 59–79. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF02012952>.

An, X. *et al.* (2022) 'Corrigendum: "Rhizosphere bacterial diversity and environmental function prediction of wild salt-tolerant plants in coastal silt soil" (Ecological Indicators (2022) 134, (108503), (S1470160X21011687), (10.1016/j.ecolind.2021.108503))', *Ecological Indicators*, 137(January), p. 108536. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.108536>.

ANAM-ARAP and Autoridad Nacional del Ambiente y Autoridad de los Recursos Acuáticos de Panamá. (2013) *Manglares de Panamá*.

Andreote, F.D. *et al.* (2012) 'The microbiome of Brazilian mangrove sediments as revealed by metagenomics', *PLoS ONE*, 7(6). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038600>.

Arbeli, Z. (2009) 'Biodegradación de compuestos orgánicos persistentes (COP): I. el caso de los bifenilos policlorados (PCB)', *Acta Biologica Colombiana*, 14(1), pp. 57–88.

Barbier, E.B. *et al.* (2008) 'Coastal ecosystem-based management with nonlinear

ecological functions and values', *Science*, 319(5861), pp. 321–323. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1150349>.

Basak, P. *et al.* (2015) 'Cataloguing the bacterial diversity of the Sundarbans mangrove, India in the light of metagenomics', *Genomics Data*, 4, pp. 90–92. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2015.03.014>.

Becker, F.G. *et al.* (2015) Title: . *Informe de Monitoreo de la Calidad del Agua en las Cuencas Hidrográficas de Panamá Compendio de Resultados 2009 – 2012*, Syria *Studies*.

Bokulich, N.A. *et al.* (2018) 'Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin', *Microbiome*, 6(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0470-z>.

Bouillon, S. *et al.* (2008) 'Mangrove production and carbon sinks: A revision of global budget estimates', *Global Biogeochemical Cycles*, 22(2), pp. 1–12. Available at: <https://doi.org/10.1029/2007GB003052>.

Bulow *et al.* (no date) *The Effect of Consumptive Waste on Mangrove Functionality: A Comparative Analysis*.

Cabral, L. *et al.* (2016) 'Anthropogenic impact on mangrove sediments triggers differential responses in the heavy metals and antibiotic resistomes of microbial communities', *Environmental Pollution*, 216, pp. 460–469. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.078>.

Callahan, Ben J. *et al.* (2016) 'Bioconductor workflow for microbiome data analysis: From raw reads to community analyses [version 1; referees: 3 approved]',

F1000Research, 5. Available at: <https://doi.org/10.12688/F1000RESEARCH.8986.1>.

Callahan, Benjamin J. *et al.* (2016) ‘DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data’, *Nature Methods*, 13(7), pp. 581–583. Available at: <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.

Cao, H. *et al.* (2011) ‘Diversity and abundance of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in polluted mangrove sediment’, *Systematic and Applied Microbiology*, 34(7), pp. 513–523. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2010.11.023>.

Castañeda, L.E. and Barbosa, O. (2017) ‘Metagenomic analysis exploring taxonomic and functional diversity of soil microbial communities in Chilean vineyards and surrounding native forests’, *PeerJ*, 2017(3), pp. 1–19. Available at: <https://doi.org/10.7717/peerj.3098>.

Chen, Y.J. *et al.* (2021) ‘Metabolic flexibility allows bacterial habitat generalists to become dominant in a frequently disturbed ecosystem’, *ISME Journal*, 15(10), pp. 2986–3004. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00988-w>.

Chong, J. *et al.* (2020) ‘Using MicrobiomeAnalyst for comprehensive statistical, functional, and meta-analysis of microbiome data’, *Nature Protocols*, 15(3), pp. 799–821. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41596-019-0264-1>.

CLARKE, K.R. (1993) ‘Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure’, *Australian Journal of Ecology*, 18(1), pp. 117–143. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x>.

Cruaud, P. *et al.* (2015) ‘Microbial communities associated with benthic faunal assemblages at cold seep sediments of the Sonora Margin, Guaymas Basin’, *Frontiers*

in Marine Science, 2(AUG). Available at: <https://doi.org/10.3389/fmars.2015.00053>.

Dhariwal, A. *et al.* (2017) 'MicrobiomeAnalyst: A web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data', *Nucleic Acids Research*, 45(W1), pp. W180–W188. Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx295>.

Dourado, M.N. *et al.* (2012) 'The Diversity of Endophytic Methylophilic Bacteria in an Oil-Contaminated and an Oil-Free Mangrove Ecosystem and Their Tolerance to Heavy Metals', *Biotechnology Research International*, 2012, pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.1155/2012/759865>.

Duke, N.C. *et al.* (2007) 'A World Without Mangroves?', *Science*, 317(5834), pp. 41–42. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.317.5834.41b>.

Feller, I.C. *et al.* (2017) 'The state of the world's mangroves in the 21st century under climate change', *Hydrobiologia*. Springer International Publishing. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3331-z>.

Getzner, M. and Islam, M.S. (2020) 'Ecosystem services of mangrove forests: Results of a meta-analysis of economic values', *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(16), pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijerph17165830>.

Giri, C. *et al.* (2011) 'Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data', *Global Ecology and Biogeography*, 20(1), pp. 154–159. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00584.x>.

Gomes, N.C.M. *et al.* (2010) 'Taking root: Enduring effect of rhizosphere bacterial colonization in mangroves', *PLoS ONE*, 5(11). Available at:

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014065>.

Guo, Y., Gong, H. and Guo, X. (2015) ‘Rhizosphere bacterial community of *Typha angustifolia* L. and water quality in a river wetland supplied with reclaimed water’, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(6), pp. 2883–2893. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6182-9>.

Haldar, S. and Nazareth, S.W. (2018) ‘Taxonomic diversity of bacteria from mangrove sediments of Goa: metagenomic and functional analysis’, *3 Biotech*, 8(10), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1441-6>.

Holguin, G., Vazquez, P. and Bashan, Y. (2001) ‘The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: An overview’, *Biology and Fertility of Soils*, pp. 265–278. Available at: <https://doi.org/10.1007/s003740000319>.

Van Hooidek, R., Maynard, J.A. and Planes, S. (2013) ‘Temporary refugia for coral reefs in a warming world’, *Nature Climate Change*, 3(5), pp. 508–511. Available at: <https://doi.org/10.1038/nclimate1829>.

Howard, J. *et al.* (2017) ‘Clarifying the role of coastal and marine systems in climate mitigation’, *Frontiers in Ecology and the Environment*, 15(1), pp. 42–50. Available at: <https://doi.org/10.1002/fee.1451>.

Huergo, L.F. *et al.* (2018) ‘Influence of ancient anthropogenic activities on the mangrove soil microbiome’, *Science of the Total Environment*, 645, pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.094>.

Hug, L.A. *et al.* (2013) ‘Community genomic analyses constrain the distribution of

metabolic traits across the Chloroflexi phylum and indicate roles in sediment carbon cycling', *Microbiome*, 1(1), pp. 1–17. Available at: <https://doi.org/10.1186/2049-2618-1-22>.

Jiang, X.T. *et al.* (2013) 'Illumina Sequencing of 16S rRNA Tag Revealed Spatial Variations of Bacterial Communities in a Mangrove Wetland', *Microbial Ecology*, 66(1), pp. 96–104. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0238-8>.

Jing, H. *et al.* (2016) 'Spatial variations of the methanogenic communities in the sediments of tropical mangroves', *PLoS ONE*, 11(9). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161065>.

Kaufmann, K.W. (2012) 'Nuestros humedales, nuestro futuro. Plan de Conservación para los Humedales de la Bahía de Panamá', in, pp. 1–73.

Kerou, M. *et al.* (2016) 'Proteomics and comparative genomics of *Nitrososphaera viennensis* reveal the core genome and adaptations of archaeal ammonia oxidizers', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(49), pp. E7937–E7946. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1601212113>.

Kerstens, K. *et al.* (2006) *Introduction to the Proteobacteria, The Prokaryotes*. Available at: https://doi.org/10.1007/0-387-30745-1_1.

Kielak, A.M. *et al.* (2016) 'The ecology of Acidobacteria: Moving beyond genes and genomes', *Frontiers in Microbiology*, 7(MAY), pp. 1–16. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00744>.

Konopka, A. (2009) 'What is microbial community ecology', *ISME Journal*, 3(11), pp. 1223–1230. Available at: <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.88>.

Langwig, M. V. *et al.* (2022) 'Large-scale protein level comparison of Deltaproteobacteria reveals cohesive metabolic groups', *ISME Journal*, 16(1), pp. 307–320. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01057-y>.

Lee, S.Y. (2004) 'Relationship between mangrove abundance and tropical prawn production: A re-evaluation', *Marine Biology*, 145(5), pp. 943–949. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00227-004-1385-8>.

Li, M. *et al.* (2011) 'Mangrove trees affect the community structure and distribution of anammox bacteria at an anthropogenic-polluted mangrove in the Pearl River Delta reflected by 16S rRNA and hydrazine oxidoreductase (HZO) encoding gene analyses', *Ecotoxicology*, 20(8), pp. 1780–1790. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0711-4>.

Li, Y. *et al.* (2019) 'Comparative metagenomics study reveals pollution induced changes of microbial genes in mangrove sediments', *Scientific Reports*, 9(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42260-4>.

Lim, J.M. *et al.* (2008) 'Reclassification of *Salegentibacter catena* Ying *et al.* 2007 as *Salinimicrobium catena* gen. nov., comb. nov. and description of *Salinimicrobium xinjiangense* sp. nov., a halophilic bacterium isolated from Xinjiang province in China', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(2), pp. 438–442. Available at: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65297-0>.

Luo, Y.Y., Not, C. and Cannicci, S. (2021) 'Mangroves as unique but understudied traps for anthropogenic marine debris: A review of present information and the way forward', *Environmental Pollution*, 271, p. 116291. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116291>.

Mai, Z. *et al.* (2021) ‘Characteristics of Microbial Community and Function With the Succession of Mangroves’, *Frontiers in Microbiology*, 12(December). Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.764974>.

McLeod, E. *et al.* (2011) ‘A blueprint for blue carbon: Toward an improved understanding of the role of vegetated coastal habitats in sequestering CO₂’, *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9(10), pp. 552–560. Available at: <https://doi.org/10.1890/110004>.

Mendes, L.W. and Tsai, S.M. (2018) ‘Distinct taxonomic and functional composition of soil microbiomes along the gradient forest-restinga-mangrove in southeastern Brazil’, *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 111(1), pp. 101–114. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0931-6>.

Mori, K., Yamaguchi, K. and Hanada, S. (2018) ‘*Sulfurovum denitrificans* sp. Nov., an obligately chemolithoautotrophic sulfur-oxidizing epsilonproteobacterium isolated from a hydrothermal field’, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(7), pp. 2183–2187. Available at: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002803>.

Mujakić, I., Piwosz, K. and Koblížek, M. (2022) ‘Phylum Gemmatimonadota and Its Role in the Environment’, *Microorganisms*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010151>.

Naushad, H.S. and Gupta, R.S. (2013) ‘Phylogenomics and Molecular Signatures for

Species from the Plant Pathogen-Containing Order Xanthomonadales’, *PLoS ONE*, 8(2). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055216>.

Nogueira, V.L.R. *et al.* (2015) ‘Microbiomes and potential metabolic pathways of pristine and anthropized Brazilian mangroves’, *Regional Studies in Marine Science*, 2, pp. 56–64. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2015.08.008>.

Nowinski, B. *et al.* (2019) ‘Microbial metagenomes and metatranscriptomes during a coastal phytoplankton bloom’, *Scientific Data*, 6(1), pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41597-019-0132-4>.

Oksanen, A.J. *et al.* (2013) ‘Package “vegan”’, (January), pp. 0–291.

Paton, S. (2017) ‘2017 Meteorological and Hydrological Summary for Barro Colorado Island Prepared by : Steven Paton’, pp. 0–33.

Peixoto, R. *et al.* (2011) ‘Bacterial communities reflect the spatial variation in pollutant levels in Brazilian mangrove sediment’, *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 99(2), pp. 341–354. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10482-010-9499-0>.

Prosser, J.I. (2020) ‘Putting science back into microbial ecology: A question of approach’, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 375(1798). Available at: <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0240>.

Prosser, J.I. and Martiny, J.B.H. (2020) ‘Conceptual challenges in microbial community ecology’, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 375(1798), pp. 2–4. Available at: <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0241>.

R Development Core Team. (2010) *R a language and environment for statistical computing : reference index*. R Foundation for Statistical Computing.

Rigonato, J. *et al.* (2018) ‘Temporal assessment of microbial communities in soils of two contrasting mangroves’, *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(1), pp. 87–96. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.04.008>.

Saintilan, N. *et al.* (2020) ‘Thresholds of mangrove survival under rapid sea level rise’, *Science*, 368(6495), pp. 1118–1121. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.aba2656>.

SEMARNAT (2011) ‘Recomendaciones para las actividades de restauración de manglares. Coordinación General de Conservación y Restauración’, p. 17.

Spain, A.M., Krumholz, L.R. and Elshahed, M.S. (2009) ‘Abundance, composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria’, *ISME Journal*, 3(8), pp. 992–1000. Available at: <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.43>.

Stewart, H.A. *et al.* (2022) ‘Novel coexisting mangrove-coral habitats: Extensive coral communities located deep within mangrove canopies of Panama, a global classification system and predicted distributions’, *PLoS ONE*, 17(6 June), pp. 1–28. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269181>.

Suenami, S., Konishi Nobu, M. and Miyazaki, R. (2019) ‘Community analysis of gut microbiota in hornets, the largest eusocial wasps, *Vespa mandarinia* and *V. simillima*’, *Scientific Reports*, 9(1), pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46388-1>.

Taketani, R.G. *et al.* (2010) ‘Microbial community response to a simulated hydrocarbon

spill in mangrove sediments’, *Journal of Microbiology*, 48(1), pp. 7–15. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12275-009-0147-1>.

Tavares, T.C.L. *et al.* (2021) ‘Brazilian Semi-Arid Mangroves-Associated Microbiome as Pools of Richness and Complexity in a Changing World’, *Frontiers in Microbiology*, 12(August), pp. 1–18. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.715991>.

Tellez-Rio, A. *et al.* (2015) ‘N₂O and CH₄ emissions from a fallow-wheat rotation with low N input in conservation and conventional tillage under a Mediterranean agroecosystem’, *Science of the Total Environment*, 508, pp. 85–94. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.041>.

Thatoi, H. *et al.* (2013) ‘Biodiversity and biotechnological potential of microorganisms from mangrove ecosystems: A review’, *Annals of Microbiology*. Springer Verlag, pp. 1–19. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0442-7>.

Torres, J.R., Barba, E. and Choix, F.J. (2018) ‘Mangrove Productivity and Phenology in Relation to Hydroperiod and Physical–Chemistry Properties of Water and Sediment in Biosphere Reserve, Centla Wetland, Mexico’, *Tropical Conservation Science*, 11. Available at: <https://doi.org/10.1177/1940082918805188>.

Waite, D.W. *et al.* (2017) ‘Comparative genomic analysis of the class Epsilonproteobacteria and proposed reclassification to epsilonbacteraeota (phyl. nov.)’, *Frontiers in Microbiology*, 8(APR). Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00682>.

Waite, D.W. *et al.* (2020) ‘Proposal to reclassify the proteobacterial classes deltaproteobacteria and oligoflexia, and the phylum thermodesulfobacteria into four

phyla reflecting major functional capabilities', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(11), pp. 5972–6016. Available at: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004213>.

Xu, J. (2015) 'Bioactive natural products derived from mangrove-associated microbes', *RSC Advances*. Royal Society of Chemistry, pp. 841–892. Available at: <https://doi.org/10.1039/c4ra11756e>.

XUE, D. *et al.* (2008) 'Soil Microbial Community Structure in Diverse Land Use Systems: A Comparative Study Using Biolog, DGGE, and PLFA Analyses Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 30671207 and 40371063).', *Pedosphere*, 18(5), pp. 653–663. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(08\)60060-0](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(08)60060-0).

Zhang, C.J. *et al.* (2021) 'Diversity, metabolism and cultivation of archaea in mangrove ecosystems', *Marine Life Science and Technology*, 3(2), pp. 252–262. Available at: <https://doi.org/10.1007/s42995-020-00081-9>.

Zhao, H. *et al.* (2019) 'Carbohydrate metabolism genes dominant in a subtropical marine mangrove ecosystem revealed by metagenomics analysis', *Journal of Microbiology*, 57(7), pp. 575–586. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12275-019-8679-5>.

ANEXOS

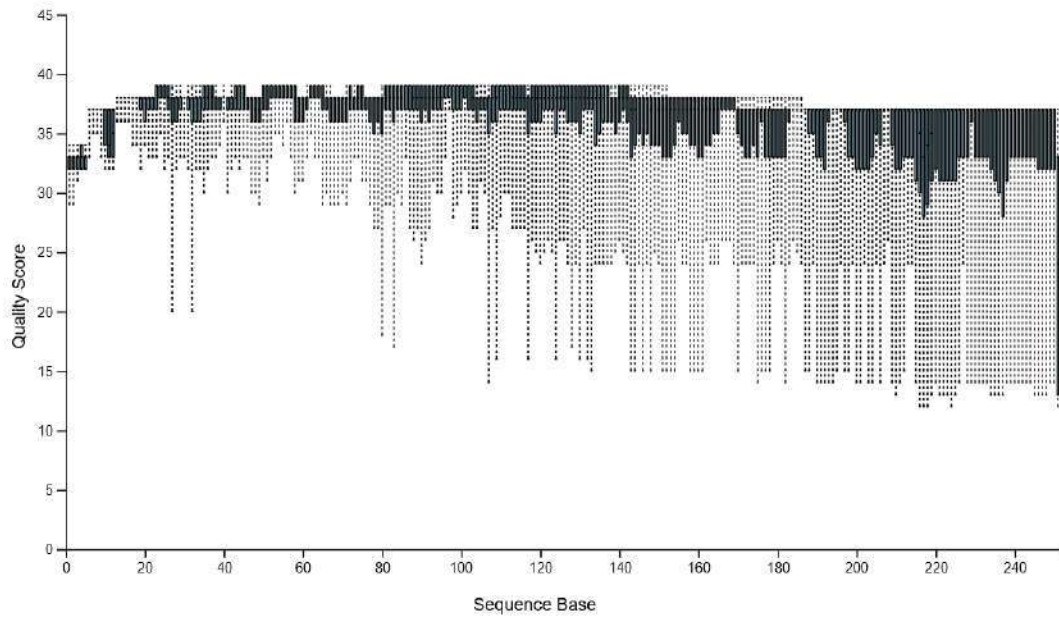


Figura 10. Gráfico de calidad de las secuencias forward.

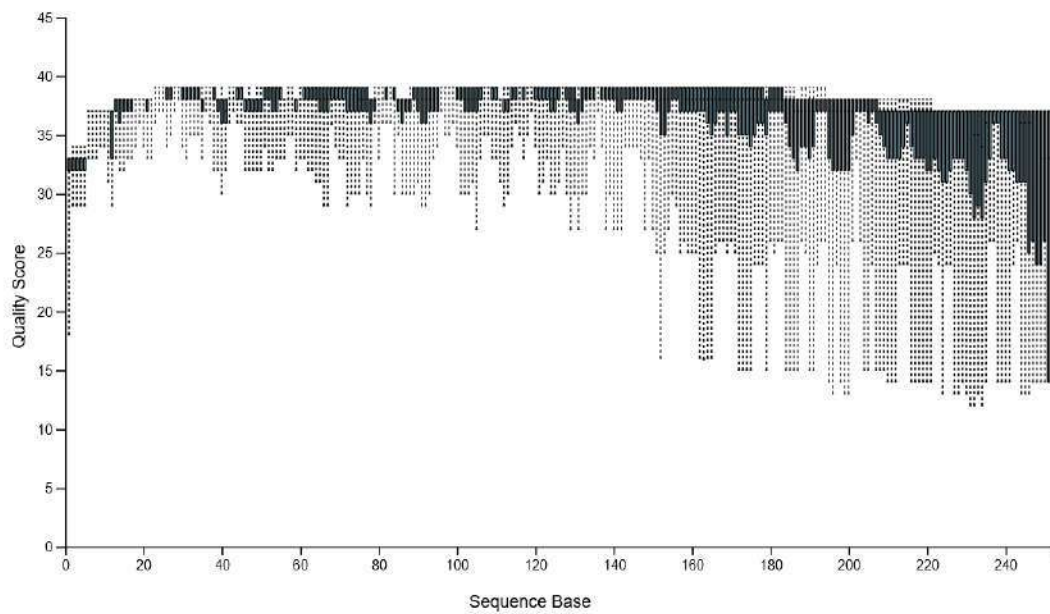


Figura 11. Gráfico de calidad de secuencias reverse.

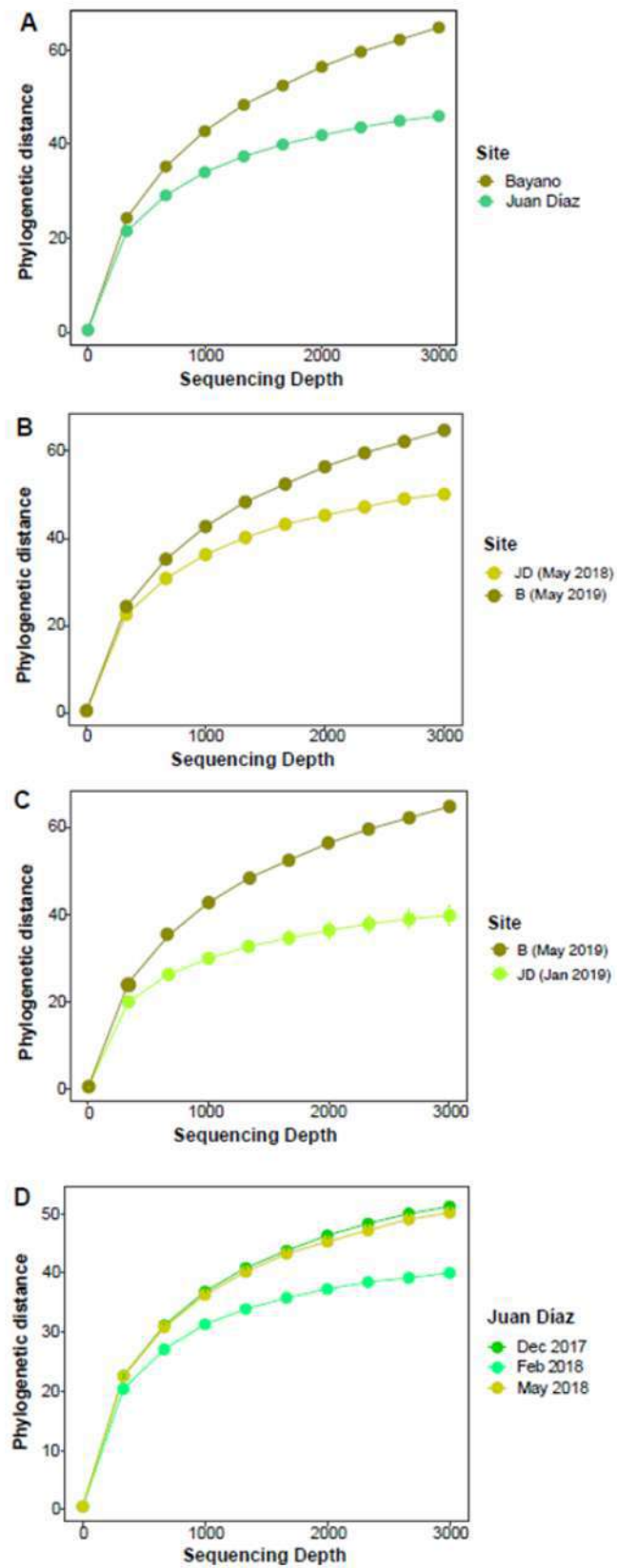


Figura 12. Curvas de rarefacción de diversidad filogenética bacteriana (basadas en Faith PD, $\pm$ SE) asociadas a manglares dentro de los dos sitios de campo (A) y en el mes en Juan Díaz (B).

Cuadro 2. Abundancia relativa (% $\pm$ DE) de los taxones de bacterias más comunes asociados con Bayano y Juan Díaz.

	Abundancia Relativa $\pm$SD Bayano, N=9	Abundancia Relativa $\pm$SD Juan Díaz, N=50
Phylum (Kingdom)		
Acidobacteriota (Bacteria)	4.84 $\pm$ 1.19	5.00 $\pm$ 1.70
Actinobacteriota (Bacteria)	4.11 $\pm$ 0.66	8.64 $\pm$ 3.71
Bacteroidota (Bacteria)	7.89 $\pm$ 1.59	7.67 $\pm$ 4.45
Campilobacterota (Bacteria)	0.85 $\pm$ 0.88	2.37 $\pm$ 2.61
Chloroflexi (Bacteria)	8.78 $\pm$ 1.68	11.45 $\pm$ 3.60
Crenarchaeota (Archaea)	1.99 $\pm$ 0.62	1.76 $\pm$ 1.02
Desulfobacterota (Bacteria)	13.69 $\pm$ 3.97	8.34 $\pm$ 4.23
Gemmatimonadota (Bacteria)	3.61 $\pm$ 0.62	5.69 $\pm$ 1.80
Myxococcota (Bacteria)	2.48 $\pm$ 0.46	3.97 $\pm$ 1.44
Planctomycetota (Bacteria)	2.74 $\pm$ 0.43	4.02 $\pm$ 1.66
Proteobacteria (Bacteria)	33.83 $\pm$ 4.93	29.11 $\pm$ 4.82
Class (Phylum)		
Acidimicrobiia (Actinobacteriota)	1.26 $\pm$ 0.26	3.07 $\pm$ 1.43
Actinobacteria (Actinobacteriota)	2.29 $\pm$ 0.68	4.53 $\pm$ 2.74
Alphaproteobacteria (Proteobacteria)	11.65 $\pm$ 2.16	14.46 $\pm$ 3.10
Anaerolineae (Chloroflexi)	6.56 $\pm$ 1.21	8.86 $\pm$ 3.09
Bacteroidia (Bacteroidota)	4.99 $\pm$ 1.68	5.20 $\pm$ 3.87
BD2-11_terrestrial_group (Gemmatimonadota)	1.68 $\pm$ 0.31	2.61 $\pm$ 1.08
Campylobacteria (Campilobacterota)	0.85 $\pm$ 0.88	2.37 $\pm$ 2.61
Desulfobacteria (Desulfobacterota)	6.19 $\pm$ 2.34	2.46 $\pm$ 1.64
Desulfobulbia (Desulfobacterota)	4.24 $\pm$ 1.60	3.72 $\pm$ 2.15
Gammaproteobacteria (Proteobacteria)	21.46 $\pm$ 3.42	14.58 $\pm$ 4.35
Nitrososphaeria (Crenarchaeota)	1.22 $\pm$ 0.70	1.36 $\pm$ 1.02
Planctomycetes (Planctomycetota)	0.95 $\pm$ 0.34	2.01 $\pm$ 1.25
Polyangia (Myxococcota)	1.87 $\pm$ 0.37	3.05 $\pm$ 1.41
Rhodothermia (Bacteroidota)	0.79 $\pm$ 0.24	1.62 $\pm$ 1.25
Vicinamibacteria (Acidobacteriota)	0.89 $\pm$ 0.38	1.61 $\pm$ 0.94
Genus (Class)		
BD2-11_terrestrial_group (BD2- 11_terrestrial_group)	1.68 $\pm$ 0.31	2.61 $\pm$ 1.08
<i>Desulfatiglans</i> (Desulfobacteria)	1.55 $\pm$ 0.54	0.30 $\pm$ 0.26
EPR3968-O8a-Bc78 (Gammaproteobacteria)	1.87 $\pm$ 0.71	2.38 $\pm$ 1.08
<i>Ignavibacterium</i> (Ignavibacteria)	1.11 $\pm$ 0.60	0.43 $\pm$ 0.44
MBMPE27 (Gammaproteobacteria)	1.05 $\pm$ 0.99	0.37 $\pm$ 0.40
MBNT15 (MBNT15)	2.14 $\pm$ 0.68	1.88 $\pm$ 1.12
<i>Methyloceanibacter</i> (Alphaproteobacteria)	0.98 $\pm$ 0.26	1.23 $\pm$ 0.89
NB1-j (NB1-j)	1.05 $\pm$ 0.45	1.51 $\pm$ 0.76

<i>Pseudolabrys</i> (Alphaproteobacteria)	1.15±0.42	0.92±0.50
<i>Salinimicrobium</i>	0.30±0.18	0.88±1.86
SBR1031 (Anaerolineae)	1.30±0.31	1.71±0.77
SEEP-SRB1 (Desulfobacteria)	1.01±0.32	0.10±0.21
Sva0081_sediment_group (Desulfobacteria)	1.76±0.51	0.66±0.68
S0134_terrestrial_group (S0134_terrestrial_group)	0.71±0.28	1.54±0.83
<i>Sulfurovum</i> (Campylobacteria)	0.56±0.36	2.14±2.40
<i>Woeseia</i> (Gammaproteobacteria)	1.66±0.94	1.04±0.57

Cuadro 3. Abundancia relativa (% ±DE) de los taxones de bacterias más comunes asociados a los meses de Juan Díaz.

	Abundancia Relativa ±SD Dec 17, N=13	Abundancia Relativa ±SD Feb 18, N=14	Abundancia Relativa ±SD May 19, N=14
Phylum (Kingdom)			
Acidobacteriota (Bacteria)	4.64±1.28	5.87±2.27	4.91±1.67
Actinobacteriota (Bacteria)	9.49±3.97	7.52±4.45	7.38±2.36
Bacteroidota (Bacteria)	6.08±2.38	4.95±3.71	12.40±4.55
Campilobacterota (Bacteria)	3.88±2.93	2.20±2.51	1.87±2.69
Chloroflexi (Bacteria)	9.96±2.73	11.58±4.58	10.88±3.26
Crenarchaeota (Archaea)	2.11±0.91	1.99±1.19	0.81±0.32
Desulfobacterota (Bacteria)	11.14±3.11	8.52±5.19	5.05±3.09
Gemmatimonadota (Bacteria)	4.70±2.10	5.40±1.56	6.30±1.65
Myxococcota (Bacteria)	3.43±0.80	3.88±0.95	5.39±1.47
Planctomycetota (Bacteria)	3.70±0.80	5.42±2.33	3.51±0.87
Proteobacteria (Bacteria)	27.85±4.64	30.36±4.68	30.70±4.95
Class (Phylum)			
Acidimicrobiia (Actinobacteriota)	3.56±1.50	3.51±1.96	2.55±0.88
Actinobacteria (Actinobacteriota)	4.64±2.73	2.81±2.26	4.33±2.10
Alphaproteobacteria (Proteobacteria)	14.16±2.73	14.85±3.82	14.69±3.59
Anaerolineae (Chloroflexi)	7.50±2.31	8.55±3.83	8.75±2.77
Bacteroidia (Bacteroidota)	4.23±2.23	3.17±3.15	8.86±4.63
BD2-11_terrestrial_group (Gemmatimonadota)	2.13±1.01	2.66±0.94	2.97±1.33
Campylobacteria (Campilobacterota)	3.88±2.93	2.20±2.51	1.87±2.69
Desulfobacteria (Desulfobacterota)	3.51±1.62	2.46±1.99	1.47±1.11
Desulfobulbia (Desulfobacterota)	4.89±1.40	4.09±2.92	1.93±1.31

Gammaproteobacteria (Proteobacteria)	13.68±3.26	15.36±5.54	15.97±4.01
Nitrososphaeria (Crenarchaeota)	1.57±0.97	1.58±1.34	0.54±0.22
Planctomycetes (Planctomycetota)	1.94±0.70	2.88±2.04	1.57±0.37
Polyangia (Myxococcota)	2.53±0.69	2.97±1.07	4.39±1.47
Rhodothermia (Bacteroidota)	1.05±0.29	1.37±0.81	2.48±1.98
Vicinamibacteria (Acidobacteriota)	1.61±0.51	2.16±1.38	1.23±0.85

Genus (Class)

BD2-11_terrestrial_group (BD2- 11_terrestrial_group)	2.12±1.00	2.66±0.93	2.97±1.33
Blrii41 (Polyangia)	0.58±0.42	0.64±0.44	1.32±0.57
EPR3968-O8a-Bc78 (Gammaproteobacteria)	2.11±0.61	2.57±1.05	2.69±1.09
MBNT15 (MBNT15) <i>Methyloceanibacter</i> (Alphaproteobacteria)	2.09±1.06	1.75±0.90	1.38±1.19
NB1-j (NB1-j)	1.41±0.86	1.37±0.92	0.65±0.15
Salinimicrobium	1.37±0.55	2.06±0.65	1.48±0.79
SBR1031 (Anaerolineae)	0.18±0.22	0.06±0.09	2.57±2.92
S0134_terrestrial_group (S0134_terrestrial_group)	1.54±0.69	1.55±0.99	1.77±0.73
<i>Sulfurovum</i> (Campylobacteria)	1.21±0.69	1.37±0.87	1.55±0.79±
Subgroup_10 (Thermoanaerobaculia)	3.42±2.55	2.05±2.37	1.67±2.65
<i>Woeseia</i> (Gammaproteobacteria)	0.77±0.32	1.30±0.51	0.93±0.50
	1.15±0.48	1.39±0.64	0.83±0.40