

## Dinámica espaciotemporal de la comunidad microbiana en la columna de agua de la Laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México

Aileen Pimentel-Cabrera<sup>1</sup>, Natalie Millán-Aguñaga<sup>1</sup>, Jorge López-Calderón<sup>1</sup>,  
Marlene N Cardoza-Contreras<sup>1</sup>, Monica Torres-Beltrán<sup>1\*</sup>

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historial del artículo:

Recibido 6 de junio de 2025

Aceptado 7 de octubre de 2025

Publicado 26 de noviembre de 2025

READ IN ENGLISH:

<https://doi.org/10.7773/cm.v2025.3564>

AUTOR DE CORRESPONDENCIA

\* E-mail: monica.torres.beltran@uabc.edu.mx

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California, 22860 Ensenada, Baja California, México.

**RESUMEN.** Las comunidades microbianas en ambientes hipersalinos son clave en los ciclos biogeoquímicos y la productividad ecológica. Este es el primer estudio que caracteriza la composición, estructura y potencial metabólico de la comunidad procariota en la columna de agua de la Laguna Ojo de Liebre (Baja California Sur, México), un ecosistema hipersalino con relevancia ecológica y socioeconómica. A partir de la información obtenida de 4 campañas de muestreo (2021-2022) en 18 estaciones, analizamos variables fisicoquímicas (salinidad, temperatura y densidad) y secuenciamos la región V4-V5 del gen 16S ARNr. Los datos se procesaron con QIIME2, y se infirió el metabolismo mediante PICRUSt2. La comunidad estuvo dominada por *Actinobacteriota*, *Bacteroidota*, *Cyanobacteriota*, *Pseudomonadota* y *Verrucomicrobiota*, con diferencias espaciotemporales vinculadas a gradientes de temperatura ( $r^2 = 0.77$ ,  $P = 0.001$ ) y salinidad ( $r^2 = 0.39$ ,  $P = 0.01$ ). Los taxones raros (<1% de abundancia relativa), como *Thermoanaerobaculales* y *Desulfobacterota*, contribuyeron a la diversidad, especialmente en noviembre. La inferencia metabólica reveló rutas significativas ( $P < 0.05$ ), como la biosíntesis de vitamina B6, la degradación de quitina y la reducción de nitrato, lo que sugiere roles en los ciclos biogeoquímicos y la adaptación a condiciones extremas. La estructura de la comunidad procariota en la laguna respondió a variaciones fisicoquímicas, con un núcleo taxonómico estable y taxones raros que incrementaron la diversidad bajo condiciones específicas. El potencial metabólico inferido resaltó su participación en procesos biogeoquímicos y su capacidad para degradar compuestos orgánicos complejos. Estos resultados establecen una línea base para entender la dinámica microbiana en sistemas hipersalinos y su impacto en la funcionalidad ecosistémica.

**Palabras clave:** ambientes hipersalinos, diversidad procariota, amplicones 16S ARNr, inferencia metabólica, ciclos biogeoquímicos, variación espaciotemporal, Laguna Ojo de Liebre.

### INTRODUCCIÓN

Las comunidades microbianas están constituidas por microorganismos que se relacionan y desempeñan una variedad de funciones en un espacio definido por factores físicoquímicos, donde encuentran las condiciones necesarias para su supervivencia (Díaz y Wachter 2003, Begon et al. 2006, Callieri et al. 2018). Las comunidades microbianas son clave para la dinámica ecológica de la biosfera debido a la relación estrecha que existe entre la composición, la estructura y el metabolismo de éstas, y los ciclos biogeoquímicos del planeta. Por ejemplo, la diversidad filogenética y genómica

de las comunidades microbianas permite que se lleven a cabo funciones metabólicas que resultan un componente crucial en la producción y el reciclaje continuos de materia orgánica y nutrientes, los cuales favorecen los flujos de energía entre distintos niveles tróficos y, además, regulan una variedad de transformaciones biogeoquímicas (Rousk y Bengtson 2014, Kost et al. 2023). De esta manera, evaluar la variación en la composición y estructura de las comunidades microbianas por efecto de factores físicoquímicos nos permite predecir los metabolismos que contribuyen al flujo de energía en un ecosistema desde la base de la cadena trófica y, por lo tanto, comprender la capacidad de un sistema para sustentar la vida.

Acceso abierto

En línea ISSN: 2395-9053

Verificado con Similarity Check impulsado por iThenticate

<https://doi.org/10.7773/cm.v2025.3564>



Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), que permite compartir y adaptar el trabajo, siempre y cuando se dé el crédito apropiado a los autores originales y la fuente, proporcione un enlace a la licencia Creative Commons e indique si se realizaron cambios. Las figuras, tablas y otros elementos del artículo están incluidos en la licencia CC BY 4.0 del artículo, a menos que se indique lo contrario. Debe solicitar permiso al titular de los derechos de autor para utilizar material no cubierto por esta licencia. El título de la revista está protegido por derechos de autor propiedad de la Universidad Autónoma de Baja California, y el título y el logotipo de la revista no están sujetos a esta licencia.

La versatilidad metabólica de los microorganismos procariotas les ha permitido adaptarse a prácticamente cualquier ecosistema, incluyendo aquellos ambientes marinos en donde las condiciones físicas y químicas sobrepasan la media de salinidad, temperatura y presión, y que, por lo tanto, son considerados ambientes extremos (Oliart-Ros et al. 2016). Los cuerpos hipersalinos son ambientes acuáticos caracterizados por una concentración de sal notablemente superior a la del agua de mar promedio (35 UPS) (Karleskint et al. 2010). Desde una perspectiva ambiental y ecológica, los cuerpos hipersalinos albergan una biodiversidad especializada de microorganismos que se encuentran adaptados a estas condiciones de alta salinidad de manera que pueden sobrevivir y mantener la funcionalidad del ecosistema (Oren 2002, 2010). La comunidad microbiana procariota en ambientes hipersalinos tiene características particulares en su composición y estructura y, sobre todo, presenta diversas adaptaciones (Kimbrel et al. 2018) que le permiten mantener actividades metabólicas esenciales, como la síntesis de proteínas y la replicación del ADN, en estas condiciones. Además, estos microorganismos exhiben estrategias metabólicas especializadas, como la osmoregulación mediante la acumulación de solutos compatibles y la producción de exopolisacáridos, para mantener su equilibrio osmótico (Oren 2002, 2008).

Sin embargo, debido a su sensibilidad a las perturbaciones ambientales, los cuerpos hipersalinos y los microorganismos que los habitan pueden servir como indicadores de alteraciones ambientales, climáticas y antropogénicas, reflejando cambios en su composición y estructura con un efecto en su metabolismo que trasciende a impactos en la función del ecosistema (Ventosa et al. 1998). Por ejemplo, muchos cuerpos hipersalinos, como las salinas costeras, se utilizan para la producción de sal, proporcionando empleo y recursos económicos importantes a las comunidades locales. De manera paralela, los microorganismos de estos ambientes son de interés biotecnológico debido a sus enzimas y compuestos únicos que pueden ser aplicados en industrias como la farmacéutica, la cosmética y la biotecnología (Ghosh et al. 2019). De esta manera, cultural e históricamente, los ecosistemas hipersalinos representan patrimonios naturales únicos que requieren conservación y protección para mantener su biodiversidad y los servicios ecosistémicos que proporcionan (Ventosa et al. 1998, Arahall et al. 2007). Por lo que, la conservación y el estudio de estos cuerpos de agua son esenciales para entender mejor sus funciones ecológicas y maximizar sus beneficios para la sociedad.

La Laguna Ojo de Liebre, ubicada en el municipio de Mulegé, Baja California Sur, México, es una laguna costera somera (5-12 m) caracterizada por su hipersalinidad (Villa-Guerrero 2019), la cual se explica principalmente por la combinación de altas temperaturas y vientos que aceleran el proceso de evaporación. Además, la escasez de lluvias durante la mayor parte del año en la región resulta en una falta de aporte de agua dulce. En conjunto, estos factores generan un gradiente en la concentración de salinidad, con

valores que aumentan hacia la cabeza de la laguna, donde se han registrado valores de salinidad de hasta 47 UPS (Contreras 1985). Esta laguna hipersalina forma parte de la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno (REBIVI) y es reconocida como Patrimonio de la Humanidad por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO, por sus siglas en inglés) debido a su importancia en términos de interacciones ecológicas y actividades socioeconómicas. Por ejemplo, es un refugio para la Ballena Gris (*Eschrichtius robustus*) durante su migración y también para diversas especies de aves. Además, es el hábitat de especies en peligro de extinción, como la Tortuga Verde (*Chelonia mydas*) (Bocanegra-Castillo 1998).

La Laguna Ojo de Liebre no solo es valiosa desde el punto de vista ecológico, sino que también sustenta una serie de actividades económicas para las comunidades locales. La pesca sostenible de especies, como peces de escama, Callo de Hacha (*Atrina maura*) y Almeja Chocolate (*Megapitaria squalida*), es una actividad económicamente importante en la región (Crespo-Guerrero y Jiménez-Pelcastre 2016). El turismo también impulsa la economía local, especialmente durante la migración anual de la Ballena Gris, la cual permite interacciones sociales que atraen a visitantes de todo el mundo (Ponce-López 2002, Bermúdez-Almada 2003). Además, la presencia de la salina solar más grande del mundo, con 303.51 km<sup>2</sup> de estanques de sal, también es una fuente crucial de ingresos; sin embargo, existe una preocupación importante acerca de los derrames de salmuera y su potencial para alterar la composición fisicoquímica del agua (Ponce-López 2002).

De acuerdo con lo anterior, el papel de las comunidades microbianas procariotas en la columna de agua es fundamental para el funcionamiento y la salud de un ecosistema, como la Laguna Ojo de Liebre, ya que estas comunidades regulan el flujo de energía, los ciclos biogeoquímicos y la remineralización de la materia orgánica, lo que permite que ocurran diversas interacciones ecológicas y socioeconómicas. Sin embargo, aún no se tiene conocimiento previo sobre la composición y la estructura de la comunidad microbiana procariota en la columna de agua de este ecosistema. Por lo que, este estudio tuvo como objetivo principal proporcionar información novedosa referente a la composición, la estructura y los cambios espaciotemporales de la comunidad microbiana procariota para generar una línea base de conocimiento que permita evaluar, desde la base trófica, aspectos de la biogeoquímica de la Laguna Ojo de Liebre que sostienen sus características interacciones ecológicas y socioeconómicas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

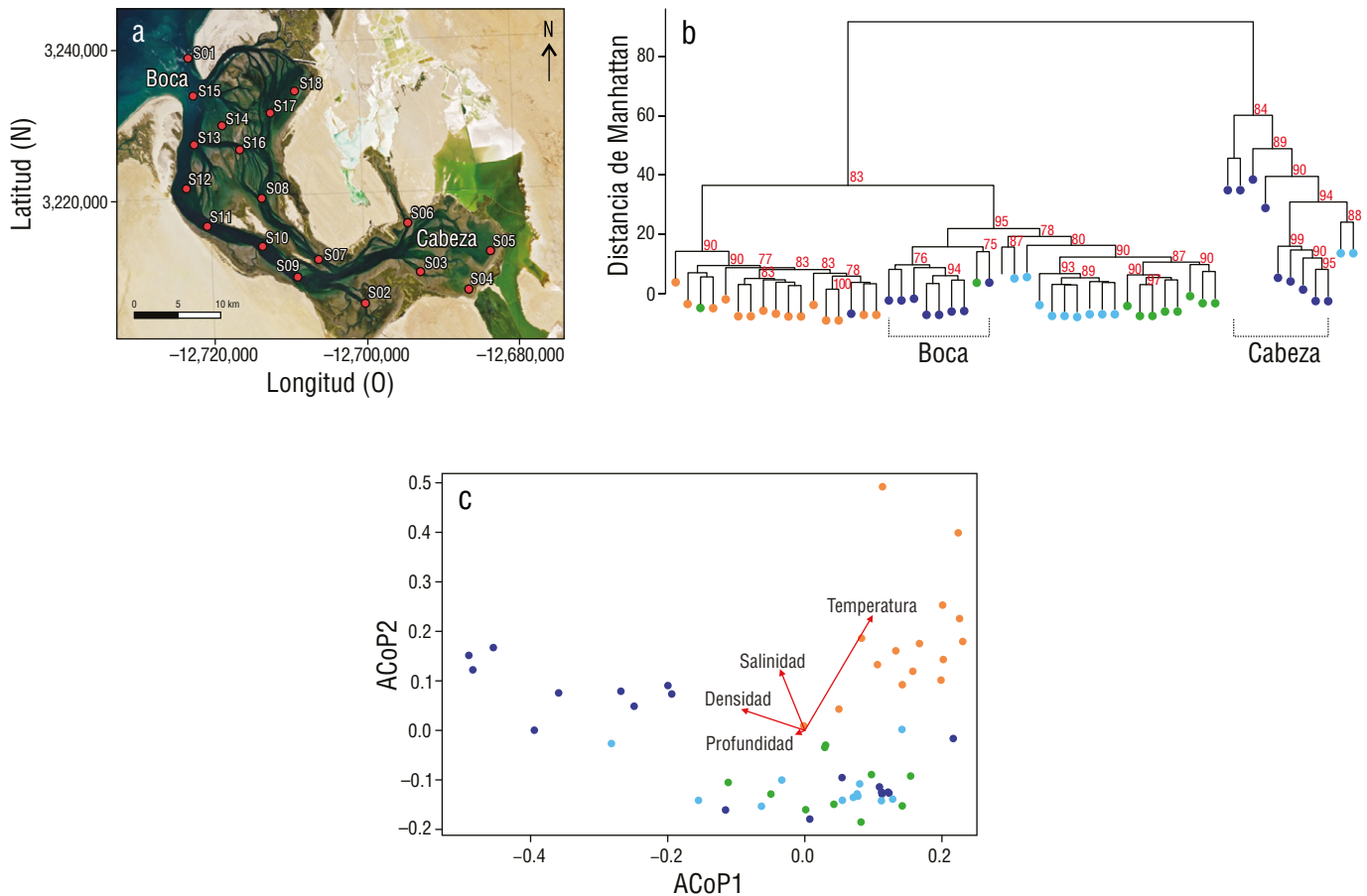
### Colecta de muestras

Se llevaron a cabo 4 muestreos en la Laguna Ojo de Liebre durante los meses de agosto y noviembre de 2021, así como

en marzo y junio de 2022. En cada muestreo, se recolectaron muestras de agua (4 L) en 18 estaciones distribuidas a lo largo de la laguna (Fig. 1a), así como se registraron datos de las variables fisicoquímicas, como salinidad, temperatura, densidad y profundidad, utilizando un CTD YSI CastAway (Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, EE. UU.). Las muestras de agua fueron tomadas utilizando una botella Niskin (5 L) a una profundidad máxima de 2 m de la superficie. Posteriormente, el agua se transfirió a botellas oscuras Nalgene (5 L) utilizando un embudo cubierto con malla de nylon de 200  $\mu\text{m}$ . Las botellas fueron almacenadas en hielo hasta el momento de ser filtradas y procesadas para la concentración de biomasa. Para obtener la concentración final de la biomasa, se filtraron hasta 2 L de agua utilizando filtros de membrana Track-end (Nucleopore, Pleasanton, EE. UU.) de 0.2  $\mu\text{m}$ . Los filtros se conservaron a  $-20^\circ\text{C}$  hasta su posterior extracción de ADN en el laboratorio.

## Análisis molecular

La extracción de ADN se llevó a cabo utilizando el kit DNeasy PowerWater® (Qiagen, Venlo, Países Bajos) siguiendo el protocolo Quick-Start del kit, con la modificación de un paso adicional de incubación a  $65^\circ\text{C}$  durante 60 min después de la adición del buffer de lisis y previo al paso de lisis mecánica. Posteriormente, el ADN total extraído fue cuantificado utilizando un NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EE. UU.). El ADN total se envió al centro *Integrated Microbiome Resource* (IMR) de la Universidad Dalhousie, Halifax, Canadá, para la generación de librerías y secuenciación de amplicones del gen 16S ARNr en la plataforma Illumina MiSeq ( $2 \times 250$  PE). De acuerdo con los protocolos de control de calidad del IMR, se consideraron las muestras con concentraciones mayores o iguales a  $1 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  y un valor mínimo de 260/280 igual a 1.8. Las



**Figura 1.** Análisis de la estructura de la comunidad procariota en la columna de agua de la Laguna Ojo de Liebre. Mapa de ubicación de las estaciones de muestreo (S1-S18) (a). Dendrograma de agrupamiento jerárquico basado en la distancia de Manhattan, mostrando la similitud entre las muestras de los 4 meses de estudio: agosto 2021 (anaranjado), noviembre 2021 (azul marino), marzo 2022 (verde) y junio 2022 (azul claro). Los valores en los nodos indican el soporte de bootstrap ( $>70\%$ , a partir de 1,000 iteraciones) para las agrupaciones significativas ( $P < 0.05$ ) (b). Análisis de coordenadas principales (ACoP) basado en la disimilitud de Bray-Curtis. Los vectores (flechas rojas) representan la dirección y fuerza de la correlación de las variables ambientales (profundidad, temperatura, salinidad y densidad) con la composición de la comunidad (c).

librerías se generaron utilizando la región V4-V5, con los cebadores universales 515FB (GTGYCAGCMGCCGCG-GTAA) y 926R (CCGYCAATTYMTTTRAGTTT) del gen 16S ARNr (Parada et al. 2015, Walters 2015). De acuerdo con los protocolos del IMR, los fragmentos de amplicones se amplificaron por PCR en duplicado a partir de ADN molde, utilizando diluciones independientes y la polimerasa de alta fidelidad Phusion Plus (Sigma Aldrich, St. Louis, EE. UU.). Se realizó una única ronda de PCR con cebadores de fusión que contenían los adaptadores de Illumina (San Diego, EE. UU.), los índices (códigos de identificación) y los cebadores universales V4-V5, lo que permitió la amplificación simultánea y la preparación de librerías para su secuenciación. Los productos de PCR se verificaron visualmente mediante electroforesis en una estación de trabajo *Nimbus Select* de alto rendimiento (Hamilton Company, Reno, EE. UU.) utilizando geles analíticos de *Coastal Genomics* (Burnaby, Canadá).

### Análisis bioinformático

Para evaluar la composición y estructura de la comunidad microbiana procariota, se realizó un análisis de amplicones del gen 16S ARNr utilizando la plataforma QIIME2 (Bolyen et al. 2019). Como resultado, se generó una tabla con la asignación taxonómica de las secuencias variantes de amplicones (ASVs, por sus siglas en inglés) obtenidos utilizando la base de datos Silva138 (Yarza et al. 2014). Posterior a la asignación taxonómica, se eliminaron las ASVs que resultaron probables contaminantes o ruido por su baja frecuencia (<0.5%) y su etiqueta taxonómica (i.e., mitocondria, cloroplastos o no asignados). Con base en lo anterior, se generó una tabla de frecuencias de las ASVs finales utilizando los comandos ‘feature-table filter-features’ y ‘taxa filter-table’ en el ambiente de QIIME2. Con esta última tabla de frecuencias de ASVs, se calculó el índice de Shannon como métrica de diversidad alfa siguiendo el comando ‘diversity core-metrics-phylogenetic’ en el ambiente de QIIME2. La abundancia relativa de las ASVs se calculó utilizando la librería ‘dplyr’ en RStudio (RStudio Team 2020) tomando la frecuencia absoluta de cada ASV en una muestra y dividiéndolo entre el total de ASVs en la misma. Este proceso se realizó para cada muestra de forma independiente, lo que resultó en una representación proporcional de cada ASV.

La evaluación de las diferencias en la composición taxonómica y estructura de la comunidad en relación con los parámetros fisicoquímicos se realizó con la tabla final de frecuencias de ASVs utilizando la librería ‘pveclus’ (Suzuki y Shimodaira 2006) y su visualización con ‘ggplot2’ (Wickham, 2016) en RStudio (RStudio Team 2020). El análisis de agrupación jerárquica utilizó la distancia de Manhattan con 1,000 réplicas, y el análisis de coordenadas principales (ACoP) se realizó con base en una matriz de disimilitud Bray-Curtis con 1,000 réplicas, incluyendo los vectores que corresponden a la correlación y significancia de las variables de salinidad, temperatura y densidad. Los análisis estadísticos y la visualización de esta

comparación se realizaron utilizando las librerías ‘vegan’ (Oksanen et al. 2019) y ‘ggplot2’ (Wickham 2016) en el ambiente de RStudio (RStudio Team 2020).

Para inferir el metabolismo microbiano, se utilizó la herramienta PICRUSt2 como módulo de QIIME2 (Langille et al. 2013). Se obtuvo una matriz de las rutas metabólicas inferidas con base en la presencia y las frecuencias de los grupos taxonómicos representativos de distintas clases de metabolismo de acuerdo con las bases de datos de grupos ortólogos de genes de la Enciclopedia de Genes y Genomas de Kioto (KEGG, por sus siglas en inglés) y MetaCyc (Caspi et al. 2014). Finalmente, se realizó una comparación temporal de los genes y las rutas metabólicas resultantes de acuerdo con un análisis de abundancia diferencial con la paquetería ‘ggpicrust’ (Chen et al. 2023), y la visualización de esta comparación se realizó utilizando la librería ‘ggplot2’ (Wickham 2016) en el ambiente de RStudio (RStudio Team 2020).

## RESULTADOS

### Parámetros fisicoquímicos

Para evaluar el efecto de los factores fisicoquímicos ambientales en la comunidad microbiana, se midieron las variables de temperatura, salinidad y densidad en las 18 estaciones de muestreo (Fig. 1a; Material suplementario Tabla S1). En general, se observó un gradiente ascendente de salinidad, temperatura y densidad desde la boca hacia la cabeza de la laguna. En particular, el valor máximo mensual promedio de la temperatura se observó en agosto ( $25.66 \pm 0.48$  °C), mientras que el mínimo mensual promedio se registró en marzo ( $16.75 \pm 0.34$  °C). En cuanto a la salinidad, el valor promedio mensual máximo fue de  $35.00 \pm 4.5$  en agosto, mientras que el valor promedio mensual mínimo fue de  $33.50 \pm 4.1$  en marzo. Se registró un rango de densidad de  $1,023$  a  $1,030$   $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$  a lo largo de la laguna. El mes que presentó el mayor rango de densidad fue marzo ( $\sim 1,024$ - $1,029$   $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ); agosto presentó los valores menores ( $\sim 1,023$ - $1,024$   $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ).

### Estructura de la comunidad procariota y su relación con variables ambientales

Se consideraron 2 aproximaciones para definir la estructura de la comunidad, destacando su distribución espaciotemporal. En primer lugar, se realizó un análisis de agrupación jerárquica para identificar patrones temporales en función de la disimilitud de la composición de la comunidad a lo largo de la laguna y durante los 4 meses de muestreo. Los resultados mostraron que las muestras se agruparon principalmente en relación con la temporada de muestreo (Fig. 1b). Por ejemplo, se observó un grupo que correspondió principalmente a las estaciones de muestreo de agosto, el cual se caracterizó por presentar los valores más altos de temperatura ( $25$ – $27$  °C) y salinidad ( $\sim 34$ – $45$  UPS). En comparación, el segundo grupo correspondió a las estaciones de muestreo de noviembre, y

se observó un grupo intermedio que correspondió a las estaciones de muestreo de marzo y junio, con rangos amplios de temperatura (16–24 °C) y salinidades (~34–41 UPS) más bajas. En cuanto a los patrones espaciales, la división entre las estaciones de la cabeza y boca de la laguna fue particularmente evidente en noviembre, mostrando una mayor distancia con aquellas que se ubicaron en la cabeza (Fig. 1b).

Además, con el objetivo de identificar la relación de las variables ambientales de temperatura, salinidad y densidad con la estructura de la comunidad, se realizó un ACoP con vectores de correlación con las variables fisicoquímicas (Fig. 1c). Similar a lo observado en el análisis de agrupación jerárquica, se identificaron 3 grupos principales en el ACoP: el primero correspondiente a agosto, el segundo compuesto principalmente por marzo y junio, y el tercero correspondiente a noviembre en la región de la cabeza de la laguna. En general, se obtuvo que la temperatura ( $r^2 = 0.77$ ,  $P = 0.001$ ) y la salinidad ( $r^2 = 0.39$ ,  $P < 0.05$ ) explicaron significativamente la estructura de la comunidad procariota (Tabla 1). En particular, la temperatura mostró una relación directa con la comunidad en agosto, y la salinidad tuvo una relación inversa con los grupos de marzo y junio. Aunque la densidad no mostró una correlación significativa ( $r^2 = 0.31$ ,  $P = 0.088$ ), su vector en el espacio del ACoP sugirió una relación con la comunidad procariota de la región de la cabeza en noviembre (Fig. 1c).

### Composición taxonómica de la comunidad procariota

Para determinar la composición y estructura taxonómica de la comunidad procariota en la columna de agua, se realizó un análisis de las secuencias del gen 16S ARNr. Se analizaron un total de 58 muestras, generando un total de 3,528,490 secuencias, de las cuales, posterior a su procesamiento, se identificaron un total de 1,700 ASVs. La asignación taxonómica de las ASVs permitió identificar 2 dominios, 207 phyla, 198 clases y 181 órdenes. Como primera aproximación para evaluar la composición de la comunidad procariota e identificar patrones generales y robustos en la estructura de la comunidad a lo largo de un gradiente ambiental, se identificaron los taxones considerados “núcleo” con base en un valor de abundancia relativa  $\geq 1\%$  (Custer et al. 2023) para un nivel taxonómico máximo de orden, considerando que estuvieron presentes en todas las estaciones y meses de muestreo. El valor de corte del 1%, aplicado a la abundancia relativa hasta el nivel taxonómico de orden, nos permitió distinguir entre los grupos dominantes o “núcleo” y los grupos subdominantes o “raros” ( $< 1\%$ ; Custer et al. 2023) en el contexto de nuestra resolución taxonómica e independientemente de las estaciones en las cuales se encontraron presentes a lo largo de la laguna (Fig. 2).

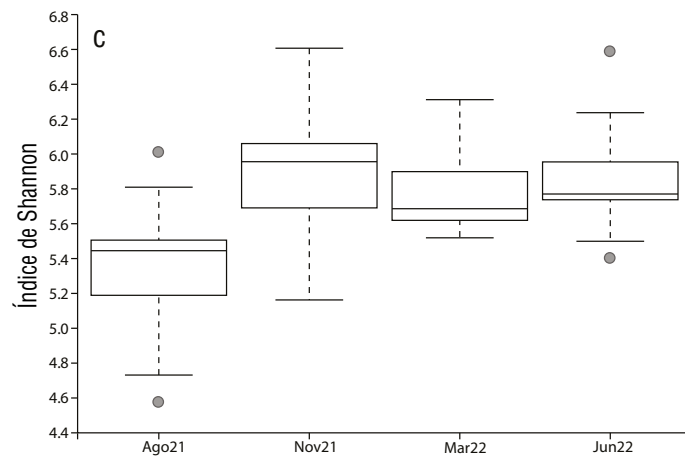
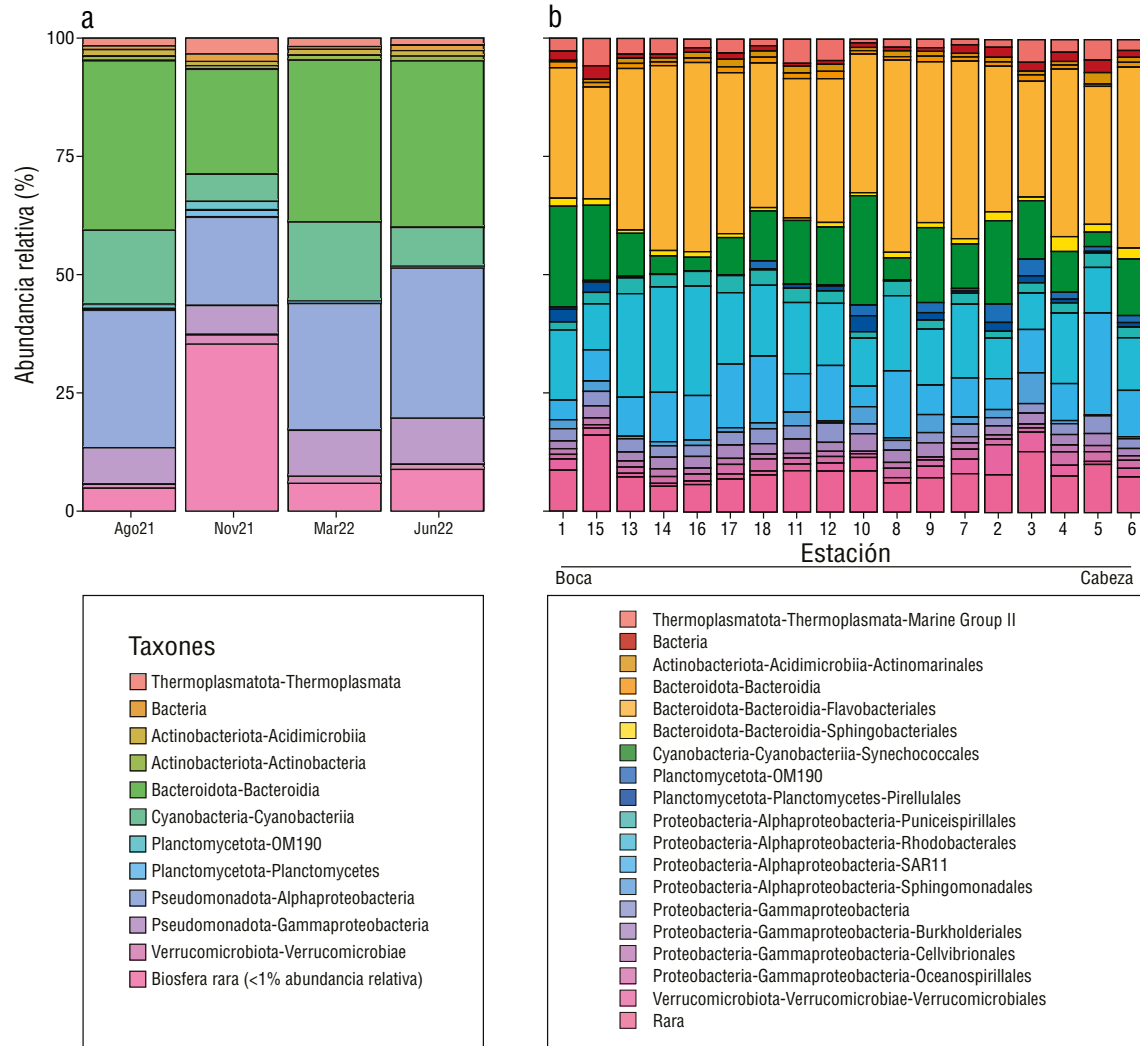
En la composición del núcleo de la comunidad, los filos que destacaron dentro del dominio Bacteria correspondieron a Actinobacteriota, Bacteroidota, Cyanobacteriota, Pseudomonadota, Planctomycetota y Verrucomicrobiota (Fig. 2a). Con respecto a la caracterización espacial del

**Tabla 1.** Valores de correlación ( $r^2$ ) y significancia ( $P$ -valor) de los factores fisicoquímicos con las coordenadas principales (ACoP).

	X1	X2	$r^2$	$P$
Profundidad	-0.86	-0.52	0.05	0.05
Temperatura	0.39	0.92	0.77	0.77
Salinidad	-0.28	0.96	0.39	0.39
Densidad	-0.91	0.42	0.31	0.31

núcleo de la comunidad procariota, se observó con mayor resolución la composición taxonómica, identificándose distintos órdenes como Flavobacteriales, Synechococcales, Pirellulales, Rhodobacterales, SAR11, Burkholderiales y Verrucomicrobiales (Fig. 2b), además de Thermoplasmata, perteneciente al Grupo Marino II, como la única clase dominante dentro del dominio Archaea (Fig. 2a). Además, se pudieron observar diferencias temporales entre las clases de los distintos filos, incluyendo las clases Bacteroidia (37.07%) y Alfa-proteobacteria (30.96%), que mostraron mayor abundancia en comparación con la clase Gamma-proteobacteria (9.68%) en los 4 meses de muestreo (Fig. 2a). En particular, temporalmente, se observó como grupo dominante al filo Actinobacteriota, siendo las clases más representativas Acidimicrobia (1.49%) y Actinobacteria (1.32%). También, se observó la abundancia relativa del filo Cyanobacteria que en marzo (16.62%) fue mayor que en agosto (15.67%) y junio (8.24%), y disminuyó en noviembre (5.65%) (Fig. 2a). Además, el filo Thermoplasmata mostró una mayor abundancia en noviembre (4.70%) (Fig. 2a).

Con respecto a los taxones raros, se observaron en un rango de 4.92–35.32% del total de las ASVs identificados. Sin embargo, se observaron diferencias temporales en su frecuencia, con un efecto directo en la diversidad total del mes de muestreo. Por ejemplo, noviembre tuvo la mayor presencia de taxones raros (35.32%), mientras que agosto presentó la menor presencia de éstos (4.92%) (Fig. 2a). Además, se analizaron las diferencias en la diversidad de la comunidad para los meses de muestreo con base en el índice de diversidad de Shannon (Fig. 2c). En particular, la distribución de la mediana, el primer cuartil y el límite mínimo inferior variaron temporalmente, siendo agosto y noviembre los meses que marcaron los extremos de diversidad. A pesar de que todas las comunidades temporalmente exhibieron una diversidad alta (valores entre 4.7 y 6.6) típica de ambientes que se consideran complejos, agosto presentó el valor mínimo (4.7), mientras que noviembre mostró el valor máximo (6.6). Además, fue posible identificar, dentro de las estaciones de muestreo, aquellas que mostraron un valor de diversidad por encima o por debajo del límite inferior o superior (valores atípicos) en una temporada determinada. Por ejemplo, para agosto, la estación S3 (6.0), que se encontró en la cabeza, presentó un valor



**Figura 2.** Composición y diversidad de la comunidad procariota en la columna de agua. Abundancia relativa (%) de las clases taxonómicas más representativas (>1% de abundancia) en las 4 campañas de muestreo (agosto y noviembre de 2021; marzo y junio de 2022). La asignación taxonómica se indica con el código de color mostrado en la leyenda (a). Abundancia relativa (%) de los órdenes taxonómicos más representativos (>1% de abundancia) en las estaciones muestreo a lo largo de la laguna (b). Diversidad alfa de la comunidad estimada mediante el índice de Shannon para cada temporada de muestreo. La caja representa el rango entre cuartiles (inferior = 25; superior = 75), la línea interior representa la mediana y los bigotes el rango de los datos. Los puntos individuales representan valores atípicos (c).

máximo atípico; de manera similar, en junio, las estaciones S15 (6.6) y S5 (5.5), ubicadas en la boca y la cabeza, respectivamente, también presentaron valores atípicos (Fig. 2c).

### Variaciones espaciotemporales en la composición de la comunidad

Para evaluar los cambios puntuales en la composición de la comunidad relacionados con la variación espaciotemporal, se compararon 6 estaciones distribuidas a lo largo de la boca (S12 y S13), parte media (S9 y S10) y cabeza (S4 y S5) de la laguna (Fig. 1a) durante noviembre y agosto. Las estaciones y temporadas fueron seleccionadas con base en los análisis de agrupación jerárquica (Fig. 1b) y diversidad (Fig. 2c). Se observaron diferencias en la composición de la comunidad en relación con la región de la laguna, incluyendo la región de la boca (S12 y S13). Estas diferencias fueron particularmente evidentes durante el mes de noviembre, cuando se observó un incremento de Thermoplasmata del Grupo Marino II y un aumento de Puniceispirillales, junto con la presencia de Flavobacteriales y Synechococcales dentro de los órdenes abundantes. En la región de las islas (S9 y S10), se observó un cambio evidente en la proporción de Thermoplasmata del Grupo Marino II y Verrucomicrobiales. Particularmente, en la estación S10, hubo un aumento significativo en la proporción de Pirellulales y Sphingomonadales en noviembre, mientras que en agosto predominaron Flavobacteriales y Rhodobacteriales. Para la región de la cabeza (S4 y S5), se observó que la proporción de SAR11 fue significativamente mayor en noviembre, mientras que en agosto fue mayor para Synechococcales. Finalmente, en la estación S5, se observó un aumento de la clase Gammaproteobacteria en noviembre, mientras que la mayor abundancia fue de Flavobacteriales y Rhodobacteriales (Fig. 2b).

Además, considerando la contribución de los grupos raros a la diversidad de la comunidad, se evaluaron las diferencias en la ocurrencia de éstos en las mismas estaciones seleccionadas (Material Suplementario Tabla S2 y Fig. S1). Principalmente, se identificaron taxones no observados previamente, incluyendo los órdenes Thermoanaerobactales, Microtrichales, Desulfobacterales y Desulfobulbales. Además, se observaron órdenes antes mencionados como Corynebacteriales, PeM15 y Propionibacteriales de Actinobacteria, Chitinophagales de Bacteridia y Vibrionales y Xanthomonadales de Gammaproteobacteria. Además, se identificaron patrones de distribución en las distintas regiones de la laguna (Material Suplementario: Tabla S2 y Fig. S1). En la región de la boca, en la estación S13, se observó al orden de Vibrionales. En la región de las islas, en la estación S9 durante agosto, se observaron Microtrichales y PeM15, mientras que se observó Chitinophagales en noviembre. En la estación S10 se observaron a Corynebacteriales, Propionibacteriales y Xanthomonadales solo en noviembre. Con respecto a la región de la cabeza, la estación S4 presentó únicamente el orden PeM15 durante agosto; en noviembre,

no se registró la presencia de ningún taxón. Finalmente, la estación S5 presentó la arquea Thermoanaerobaculia y los órdenes Desulfobacterales y Desulfobulbales, aunque solo en noviembre (Material Suplementario: Tabla S2 y Fig. S1).

### Inferencia de metabolismo

Para inferir el potencial metabólico en la columna de agua, se utilizaron las secuencias y asignaciones taxonómicas de las ASVs que definieron la composición taxonómica de la comunidad procariota. El análisis diferencial se realizó mediante 2 aproximaciones principales considerando la diferencia estacional de la comunidad resuelta con los análisis de agrupación jerárquica y diversidad: (1) la inferencia de genes y (2) la inferencia de rutas metabólicas. Por lo que, se analizaron y compararon las inferencias de los genes y rutas metabólicas presentes en agosto y noviembre. Respecto a lo encontrado en el análisis de abundancia diferencial estacional, se identificaron un total de 4,529 genes, de los cuales 2,214 contribuyeron significativamente ( $P < 0.05$ ) a esta diferencia estacional (Fig. 3a). Dentro de las categorías de metabolismo relacionadas con los genes inferidos destacaron el metabolismo de cofactores y vitaminas (9%), la degradación de xenobióticos (2%), el metabolismo de terpenoides y policétidos (2.7%) y la biosíntesis de metabolitos secundarios (0.5%), además de las categorías dentro del metabolismo central como el metabolismo de carbohidratos (20%), lípidos (4%) y aminoácidos (11%) y la generación de energía (16%). En particular, se seleccionaron los genes dentro de las categorías de metabolismo de cofactores y vitaminas, la degradación de xenobióticos, el metabolismo de terpenoides y policétidos y la biosíntesis de metabolitos secundarios. Los genes que destacaron fueron aquellos relacionados con las rutas de metabolismo de la vitamina B6, riboflavina (B2) y biotina (B7) (metabolismo de cofactores y vitaminas); la biosíntesis de flavonoides y estreptomycin (biosíntesis de metabolitos secundarios); la biosíntesis de sideróforos, carotenoides y terpenoides (metabolismo de terpenoides y policétidos), y la degradación de etilbenceno, estireno, nitrotolueno, benzoato y cloroalcano (degradación de xenobióticos) (Fig. 3a).

Respecto a la inferencia de las rutas metabólicas, se resolvieron un total de 420 rutas metabólicas, de las cuales fue posible asignar a una categoría a 377 rutas. Del total de las rutas asignadas, el 86.47% estaba relacionado con la biosíntesis de moléculas, incluyendo aminoácidos; el 11.93% estaba relacionado directamente con los ciclos biogeoquímicos, como los ciclos de carbono, nitrógeno y azufre, y el 1.56% estaba relacionado con la degradación de hidrocarburos. Además, se observó que 130 rutas metabólicas contribuyeron significativamente ( $P < 0.05$ ) a la diferenciación estacional del metabolismo inferido para la comunidad (Fig. 3b). Dentro de las categorías significativas observadas, se destacaron la ruta de reducción de nitrato, la biosíntesis de la vitamina B6, la degradación de quitina y la degradación de tolueno 4-sulfonato.



influenciada por variables fisicoquímicas, como la temperatura y la salinidad, principalmente dividiendo a la comunidad en 3 grupos de acuerdo con el mes de muestreo, mientras que espacialmente las comunidades de la boca y cabeza se encontraron bien diferenciadas. Además, se infirieron rutas de metabolismo primario relacionadas con la biosíntesis de moléculas, como aminoácidos, y el metabolismo heterotrófico, al igual que rutas relacionadas con los ciclos biogeoquímicos del carbono, nitrógeno y azufre, y la degradación de hidrocarburos. Lo anterior sugiere que la Laguna Ojo de Liebre es un sistema diverso con respecto a la comunidad microbiana de la columna de agua, la cual tiene el potencial de aportar directamente a la biogeoquímica del ecosistema.

### Temporalidad de factores fisicoquímicos

Se observó un gradiente de temperatura y salinidad con una relación significativa en la estructura de la comunidad procariota de la Laguna Ojo de Liebre, la cual se divide espacial y temporalmente en grupos (Fig. 1a), de manera similar a lo reportado en otros ambientes hipersalinos (Thompson y Lee 2020). La mayor diferencia en la composición de la comunidad ocurrió entre agosto y noviembre, meses asociados a un gradiente fisicoquímico influenciado por periodos de marea muerta durante los días de muestreo. Estos periodos favorecen la diferenciación estacional, a diferencia de las mareas vivas, que promueven un fuerte intercambio de agua con la Bahía de Vizcaíno, modificando la temperatura, salinidad y densidad de la laguna (Álvarez-Borrego y Granados-Guzmán 1992). La temperatura mostró la correlación más significativa ( $r^2 = 0.77$ ,  $P = 0.001$ ) con la composición de la comunidad, explicando la agrupación de las muestras de agosto, el mes más cálido, lo que coincide con observaciones previas sobre su efecto directo en comunidades microbianas marinas (Zhou et al. 1996). Además, de acuerdo con el análisis de ordenación, la relación de la densidad con la agrupación de las muestras de noviembre y su división entre la boca y el interior de la laguna es concordante con la dinámica reportada también en otras lagunas costeras hipersalinas influenciadas por las mareas, la evaporación, la circulación y la morfología (Clementino et al. 2008, Carvalho et al. 2024).

Con respecto a la diferenciación espacial entre la boca y la cabeza de la laguna, esta puede atribuirse al efecto de la marea en el tiempo de residencia del agua, lo cual influye en el recambio y permanencia de taxones (Álvarez-Borrego y Granados-Guzmán 1992). Por ejemplo, noviembre ha sido el mes en el que se ha registrado el mayor tiempo de residencia (124 días) (Soto-López 2024). Además, durante mareas vivas, se produce un intercambio considerable de masas de agua en la región de la boca, mientras que, el tiempo de residencia es mayor en la cabeza, dependiendo de la circulación en Bahía Vizcaíno y los patrones de viento (Soto-López 2024).

### Composición y estructura de la comunidad procariota

Para los objetivos de este estudio, orientados a identificar patrones generales en la estructura procariota a lo largo de un gradiente ambiental, el análisis a nivel de orden resultó apropiado e informativo. Se ha sugerido que la definición de “núcleo” microbiano, incluyendo el nivel taxonómico y el valor de corte de abundancia, se establezca según las preguntas de investigación y la escala ecológica del estudio (Custer et al. 2023). En este caso, al trabajar a nivel de orden con un corte de  $>1\%$  de abundancia relativa, buscamos identificar los grupos taxonómicos principales que formaron persistentemente la base estructural de la comunidad. Este enfoque permitió discernir los taxones clave que respondieron a las condiciones ambientales del marco temporal considerado en este estudio. Si bien el marco temporal de este estudio solo consideró un ciclo anual, los resultados obtenidos aportan información sin precedentes para la Laguna Ojo de Liebre sobre la influencia de la variación de los factores fisicoquímicos y la dinámica de la columna de agua en la composición de la comunidad microbiana. Así, fue posible diferenciar un “núcleo” formado por taxones recurrentes y abundantes, como los filos Pseudomonadota, Bacteroidota, Actinobacteriota, Cyanobacteria y Verrucomicrobiota, lo cual es similar a lo reportado en otros sistemas hipersalinos con rangos de salinidad y temperatura comparables, como la Laguna de Araruama (salinidad: 36-50; Clementino et al. 2008) y la Laguna de Thau (salinidad: 25-40; temperatura:  $\sim 10$ - $20$  °C; Trombetta et al. 2022). Lo anterior respalda la consistencia de nuestras observaciones y establece una línea base de conocimiento para futuras comparaciones interanuales que permitirán resolver la influencia de los fenómenos climáticos de mesoescala sobre la composición y estructura las comunidades microbianas en la laguna.

La dinámica estacional influyó en la distribución y abundancia de este núcleo (Fig. 2a). Cyanobacteria fue más abundante en marzo y disminuyó progresivamente, mientras que Planctomycetota y Verrucomicrobiota aumentaron en noviembre. Estos 2 últimos, típicamente clasificados como mesófilos (prefieren  $\sim 20$ - $35$  °C) y asociados a sedimentos ricos en materia orgánica, suelen co-ocurrir y participan en la degradación de compuestos complejos, incluidos los hidrocarburos (Schlesner y Stackebrandt 1987, Hedlund y Staley 2006, Lee et al. 2009). Por su parte, Actinobacteriota, con la clase Acidimicrobia, ha mostrado adaptaciones a la hipersalinidad mediante la acumulación de solutos, la formación de esporas y su versatilidad metabólica (Ventura et al. 2007). Además, a diferencia de otros ambientes hipersalinos donde son comunes Euryarchaeota, Thaumarchaeota y Halobacteriota (Clementino et al. 2008, Trombetta et al. 2022), solo se detectó el filo Thermoplasmata (Grupo Marino II), lo cual fue reportado en los tapetes microbianos de Bahía Vizcaíno (Robertson 2009, García-Maldonado et al. 2023). Este grupo participa en la renovación de materia orgánica derivada del

fitoplancton (Hugoni et al. 2013), lo que concuerda con la alta productividad de la laguna.

Los taxones raros (<1% de abundancia relativa) también contribuyeron a la diversidad estacional (Material Suplementario Fig. S1), y estos pueden influir en las interacciones biológicas, las redes tróficas (Lyons et al. 2005) y la degradación de contaminantes (Pester et al. 2010, Delgado-Baquerizo et al. 2016). La identificación de grupos raros como Crenarchaeota, Acidobacteriota, Bdellovibrionota, Chloroflexota, Gemmatimonadota, Latescibacterota, Marinimicrobia y Myxococcota, sugieren que la posible resuspensión de sedimentos por perturbaciones ambientales, cambie la composición de la comunidad de los sedimentos como se ha observado en comunidades microbianas bentónicas (Garsteki et al. 2002, Pusceddu et al. 2005). Esto es relevante en la Laguna Ojo de Liebre debido a la actividad de embarcaciones y la presencia de la Ballena Gris, que podrían favorecer la mezcla y resuspensión de sedimentos.

La diversidad mostró un patrón espaciotemporal en el que noviembre registró la mayor diversidad y abundancia de taxones raros, mientras que agosto presentó los valores más bajos. En la cabeza de la laguna (S5), con alto tiempo de residencia, fueron frecuentes Thermoanaerobaculia (Thermoanaerobaculales) y Desulfobacterota (Desulfobacterales y Desulfobulbales). En la zona media (S9 y S10), con mayor intercambio de agua, predominaron Actinobacteriota (e.g., Microtrichales y Corynebacteriales), coincidiendo con una mayor diversidad. La variabilidad en los tiempos de residencia, asociada a la circulación en Bahía Vizcaíno, afecta la renovación de agua y podría explicar la presencia temporal de estos grupos raros en microhábitats únicos durante periodos de baja circulación (Mehrabi et al. 2014, Wu et al. 2024).

### Inferencia del metabolismo microbiano

Las inferencias metabólicas basadas en los datos de 16S rRNA mediante PICRUSt2 permitieron obtener una visión funcional del potencial metabólico de la comunidad procarionota en la columna de agua de la laguna. Sin embargo, es crucial considerar las incertidumbres inherentes a esta aproximación metodológica. Agrawal et al. (2019) reportaron que PICRUSt puede presentar variaciones en la precisión de sus predicciones en comparación con métodos directos, como la metagenómica *shotgun* o la cuantificación de genes en tiempo real (qPCR) (Agrawal et al. 2019). Por lo tanto, hemos interpretado los resultados obtenidos como una indicación robusta y cualitativa de la presencia potencial de rutas metabólicas en el ecosistema. Particularmente, la consistencia en la detección de enzimas relacionadas con una misma ruta (i.e., asociadas al ciclo del nitrógeno o a la degradación de quitina) fortalece la confiabilidad de nuestras inferencias sobre las capacidades funcionales de la comunidad, aun reconociendo el margen de error descrito para la herramienta.

Se identificó el potencial para la biosíntesis de vitaminas B. Entre los taxones clave se encontraron los órdenes

Rhizobiales, Rhodobacterales y Sphingomonadales, y el clado SAR11 (Pseudomonadota), así como Flavobacteriales y Sphingomonadales (Bacteroidota), estos últimos potencialmente involucrados en la producción de biotina (B7) (Sañudo-Wilhelmy et al. 2006). Por ejemplo, la vitamina B6 (como PLP) facilita la síntesis de osmoprotectores en microorganismos, como SAR11 y cianobacterias, ante fluctuaciones de salinidad (Sañudo-Wilhelmy et al. 2012). El metabolismo de vitaminas (B2, B6 y B7) es crucial para la supervivencia microbiana en ambientes hipersalinos. Estas vitaminas, sintetizadas principalmente por microorganismos marinos, actúan como cofactores en procesos esenciales, como el metabolismo de aminoácidos (B6), las reacciones de oxidación-reducción (B2) y la síntesis de ácidos grasos (B7), afectando directamente la productividad de los ecosistemas (Oren 2011, Sañudo-Wilhelmy et al. 2012, Sañudo-Wilhelmy et al. 2014, Wang et al. 2023). Su disponibilidad influye en los ciclos biogeoquímicos y la actividad del fitoplancton y bacterioplancton, como se ha documentado en zonas costeras (Averianova et al. 2020).

Además, la inferencia metabólica sugiere la producción de metabolitos secundarios. Se detectó el potencial para sintetizar antibióticos, como la estreptomina, respaldado por el aislamiento previo del género *Streptomyces* (filo Actinobacteriota) en la laguna (Zamora-Quintero et al. 2022). También se infirió la biosíntesis de sideróforos (i.e., desferrioxamina E, carotenoides y terpenoides), la cual es una estrategia adaptativa clave ante el estrés oxidativo, la alta radiación UV y la limitación de nutrientes, como la generalmente reportada ausencia de hierro en los sedimentos (Gunde-Cimerman et al. 2018, Valdivieso-Ojeda et al. 2021, Zamora-Quintero et al. 2022). Las condiciones ambientales durante el estudio (salinidad: 34-45; temperatura: 19-27 °C; radiación UV: <math>134.4 \text{ kW}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{día}^{-1}</math> en agosto) apoyan el argumento de que estos metabolismos son determinantes en la estructura de la comunidad microbiana (Alonso-Reyes et al. 2021, NASA POWER 2022) y regulan las interacciones mediante exclusión o dominancia de taxones (Vraspir y Butler 2009, Oren 2014). Un ejemplo de esta relación ambiente-metabolismo es la fluctuación estacional del orden Synechococcales. Su mayor abundancia en la cabeza de la laguna (estación S4) en agosto, un periodo de mayor salinidad, temperatura y radiación UV, sugirió una potencial relación con la producción de flavonoides, un metabolismo que contribuyó significativamente a la variación estacional ( $P < 0.05$ ). Esto concuerda con reportes previos de que cianobacterias, como *Synechococcus*, sintetizan estos compuestos como protección (Gunde-Cimerman et al. 2018).

Respecto a la potencial biodegradación de hidrocarburos, aunque las arqueas halófilas son conocidas por degradar hidrocarburos en ambientes hipersalinos (Oren 2014), su baja diversidad en este estudio (principalmente Thermoplasmata) sugiere que la degradación de compuestos, como el tolueno, en la columna de agua es limitada. Los potenciales aportes de hidrocarburos a la laguna son los derrames

de combustible asociados a la actividad de embarcaciones de turismo, la pesca y el transporte de la salina. Si bien las acciones regulatorias vigentes del programa de manejo de la laguna promueven que las embarcaciones que ingresen a la reserva eviten la dispersión de hidrocarburos en los cuerpos de agua (CONANP y SEMARNAT 2016), sugerimos que estudios posteriores se enfoquen en la cuantificación y caracterización de estos compuestos, que posiblemente se concentren en los sedimentos, los cuales puedan ser resuspendidos hacia la columna de agua por la dinámica de la laguna, así como en la evaluación de la actividad de la comunidad microbiana hidrocarbonoclasta (Widdel y Rabus 2001).

Finalmente, se destaca el potencial para la degradación de quitina, la cual es crucial para el reciclaje de carbono y nitrógeno. Aunque los órdenes especializados de Chitinophagales y Vibrionales se encontraron en baja abundancia en noviembre, su presencia, junto con la actividad zooplanctónica reportada en la laguna (Sánchez-Cobarrubias et al. 2021), sugiere que este proceso podría ser relevante tras los picos de abundancia de zooplancton, conectando la disponibilidad del sustrato con el metabolismo microbiano y la productividad (Keyhani y Roseman 1999, Souza et al. 2011).

## CONCLUSIONES

Este estudio es la primera caracterización de la comunidad procariota de la columna de agua de la Laguna Ojo de Liebre. Los resultados muestran que la comunidad procariota está estructurada principalmente por la temperatura y compuesta por un núcleo microbiano característico de ambientes hipersalinos. La importancia de nuestro estudio también incluye haber identificado posibles funciones ecológicas que la comunidad puede mantener, principalmente los ciclos biogeoquímicos fundamentales para el ecosistema. Además, una fracción de taxones poco abundantes, que proliferan en condiciones de baja renovación de agua, tienen el potencial de aportar capacidades metabólicas especializadas para la resiliencia del ecosistema. De esta manera, el conjunto de resultados de este estudio sugiere que la interacción entre el núcleo estable y la comunidad rara dinámica es fundamental para sostener la productividad y salud de este vital ecosistema costero.

## DECLARACIONES

### Material suplementario

El material suplementario de este estudio puede encontrarse en: <https://cienciasmarinas.com.mx/index.php/cmarias/article/view/3564/420421271>.

### Agradecimientos

Agradecemos a la Exportadora de Sal S.A. por su apoyo general y logístico en Guerrero Negro, Baja California Sur, para la recolección de muestras de sedimento. Agradecemos

a los estudiantes voluntarios del grupo de investigación de Ecología del Fitoplancton de la Universidad Autónoma de Baja California por su apoyo invaluable en la colecta de muestras.

### Financiamiento

Este estudio fue financiado por la Universidad Autónoma de Baja California con el proyecto “Indicadores ambientales del estado de salud del humedal Laguna Ojo de Liebre (Reserva de la Biósfera El Vizcaíno)” (no. 401-1-C-35-22). Aileen Pimental recibió una beca para estudios de Maestría por SECIHTI (CVU 1227483).

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

### Contribuciones de autor

Conceptualización: APC, MTB, NMA; Curación de datos: APC, MTB; Análisis formal: APC, MTB; Adquisición de financiamiento: APC, JLC; Investigación: MTB, NMA, JLC, MNCC; Metodología: MTB, NMA; Administración del proyecto: JLC; Recursos: MTB, JLC; Software: APC, MTB; Supervisión: MTB, NMA, JLC, MNCC; Validación: MTB, NMA, JLC, MNCC; Visualización: APC, MTB; Redacción—borrador original: APC; Redacción—revisión y edición: MTB, NMA, JLC, MNCC.

### Disponibilidad de datos

Los datos de secuenciación de este estudio se encuentran disponibles en el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en inglés) (BioProject: PRJNA1274005). Este estudio se llevó a cabo dentro de la normatividad vigente y en cumplimiento a lo requerido por la Reserva de la Biósfera El Vizcaíno.

### Uso de herramientas de IA

Los autores no utilizaron ninguna herramienta de inteligencia artificial para este trabajo.

## REFERENCIAS

- Agrawal S, Kinh CT, Schwartz T, Hosomi M, Terada A, Lackner S. 2019. Determining uncertainties in PICRUSt analysis—An easy approach for autotrophic nitrogen removal. *Biochem Eng J.* 152:107328. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107328>
- Alonso-Reyes DG, Galván FS, Portero LR, Alvarado NA, Farías ME, Vazquez MP, Albarracín VH. 2021. Genomic insights into an Andean multiresistant soil actinobacterium of biotechnological interest. *World J Microbiol Biotechnol.* 37:166. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03129-9>
- Álvarez-Borrego S, Granados-Guzmán G. 1992. Temporal and spatial variation of temperature in a winter habitat of the gray whale: Ojo de Liebre lagoon = Variación espacio-temporal de

- temperatura en un hábitat de invierno de la ballena gris: laguna Ojo de Liebre. *Cienc Mar.* 18(1):151-165.  
<https://doi.org/10.7773/cm.v18i1.872>
- Arahal DR, Márquez MC, Ventosa A. 2007. Salting in the ancient world and its economic impact. *Saline Syst.* 3:1-9.  
<https://doi.org/10.1186/1746-1448-3-1>
- Averianova L, Balabanova LA, Son OM, Podvolotskaya AB, Tekutyeva LA. 2020. Production of vitamin B2 (riboflavin) by microorganisms: An overview. *Front Bioeng Biotechnol.* 8-2020.  
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.570828>
- Begon M, Townsend CR, Harper JL. 2006. *Ecology: From Individuals to Ecosystems.* Oxford (United Kingdom): Blackwell Publishing. 100 p.
- Bermúdez-Almada B. 2003. *Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar. Reserva de la Biosfera "El Vizcaíno."* Mexico City (Mexico): Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. Information sheet. p. 2-9.
- Bocanegra-Castillo N. 1998. Interacciones tróficas de la ictiofauna más abundante en la Laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México [MSc thesis]. [Mexico]: Instituto Politécnico Nacional. 82 p.
- Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA, Alexander H, Alm EJ, Arumugam M, Asnicar F, et al. 2019. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol.* 37:852-857.  
<https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
- Callieri C, Eckert EM, Di Cesare A, Bertoni F. 2018. Microbial communities. *Ref Module Earth Syst Environ Sci.* 1:126-134.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11222-9>
- Carvalho ACB, Carvalho MV, Trevisan CL, Rosman PCC, Wasserman JC. 2024. Modeling a hypersaline lagoon to evaluate salinity changes due to morphology of an ocean connection. *Rev Bras Rec Hid.* 29:e44.  
<https://doi.org/10.1590/2318-0331.292420240078>
- Caspi R, Altman T, Billington R, Dreher K, Foerster H, Fulcher CA, Holland TA, Keseler IM, Kothari A, Kubo A, et al. 2014. The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of pathway/genome databases. *Nucleic Acids Res.* 42(D1):D459-D471.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkt1103>
- Chen Y, Mai J, Cao X, Burberry A, Cominelli F, Zhang L. 2023. gpicrust2: an R package for PICRUST2 predicted functional profile analysis and visualization. *Bioinformatics.* btad470.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btad470>
- Clementino MM, Vieira RP, Cardoso AM, Nascimento APA, Silveira CB, Riva TC, Gonzalez ASM, Paranhos R, Albano RM, Ventosa A, et al. 2008. Prokaryotic diversity in one of the largest hypersaline coastal lagoons in the world. *Extremophiles.* 12:595-604.  
<https://doi.org/10.1007/s00792-008-0162-x>
- [CONANP y SEMARNAT] Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas y Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2016. Programa de Manejo Reserva de la Biosfera Complejo Lagunar Ojo de Liebre. 1st ed. Mexico City (Mexico): CONANP y SEMARNAT. 162 p. [https://www.conanp.gob.mx/datos\\_abiertos/DGCD/RB\\_Complejo\\_Lagunar\\_Ojo\\_de\\_Liebre.pdf](https://www.conanp.gob.mx/datos_abiertos/DGCD/RB_Complejo_Lagunar_Ojo_de_Liebre.pdf)
- Contreras F. 1985. Las lagunas costeras mexicanas. Mexico City (Mexico): Centro de Ecodesarrollo y Secretaría de Pesca. 263 p.
- Crespo-Guerrero JM, Jiménez-Pelcastre A. 2016. Organización del sector pesquero comercial ribereño en la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno (México). *Rev Geogr Venez.* 57(2):263-259.
- Custer GF, Gans M, van Diepen LTA, Dini-Andreote F, Buerkle CA. 2023. Comparative Analysis of Core Microbiome Assignments: Implications for Ecological Synthesis. *mSystems.* 8:e01066-22.  
<https://doi.org/10.1128/msystems.01066-22>
- Delgado-Baquerizo M, Giaramida L, Reich PB, Khachane AN, Hamonts K, Edwards C, Lawton LA, Singh BK. 2016. Lack of functional redundancy in the relationship between microbial diversity and ecosystem functioning. *J Ecol.* 104:936-946.  
<https://doi.org/10.1111/1365-2745.12585>
- Díaz RG, Wacher RC. 2003. Métodos para el estudio de comunidades microbianas en alimentos fermentados. *Rev Latinoam Microbiol.* 45:30-40.
- García-Maldonado JQ, Latisnere-Barragán H, Escobar-Zepeda A, Cadena S, Ramírez-Arenas PJ, Vázquez-Juárez R, Rojas-Contreras M, López-Cortés A. 2023. Revisiting microbial diversity in hypersaline microbial mats from Guerrero Negro for a better understanding of methanogenic archaeal communities. *Microorganisms.* 11(3):812.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11030812>
- Garsteki T, Wickman SA, Arndt H. 2002. Effects of experimental sediment resuspension on a coastal planktonic microbial food web. *Estuar Coast Shelf Sci.* 55(5):751-762.  
<https://doi.org/10.1006/ecss.2001.0937>
- Ghosh S, Kumar, S, Khare, SK. 2019. Microbial diversity of saline habitats: an overview of biotechnological applications. In: Giri B, Varma A (eds.), *Microorganisms in Saline Environments: Strategies and Functions.* Cham (Switzerland): Springer Nature Switzerland. 471 p.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-030-18975-4\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-18975-4_4)
- Gunde-Cimerman N, Plemenitaš A, Oren A. 2018. Strategies of adaptation of microorganisms of the three domains of life to high salt concentrations. *FEMS Microbiol Rev.* 42(3):353-375.  
<https://doi.org/10.1093/femsre/fuy009>
- Hedlund BP, Staley JT. 2006. The Phylum Verrucomicrobia: A phylogenetically diverse bacterial group. *Environ Microbiol.* 8(5):847-858.
- Hugoni M, Taib N, Debroas D, Domain I, Dufournel IJ, Bronner G, Salter I, Agogué H, Mary I, Galand PE. 2013. Structure of the rare archaeal biosphere and seasonal dynamics of active ecotypes in surface coastal waters. *Proc Natl Acad Sci USA.* 110(15):6004-6009.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1216863110>
- Karleskint G, Turner R, Small J. 2010. *Introduction to Marine Biology.* 4th ed. Boston (USA): Cengage Learning. 592 p.
- Keyhani NO, Roseman S. 1999. Physiological aspects of chitin catabolism in marine bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 53:17-50.  
[https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(99\)00172-5](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(99)00172-5)
- Kimbrel JA, Ballor N, Wu YW, David MM, Hazen TC, Simmons BA, Singer SW, Jansson JK. 2018. Microbial community structure and functional potential along a hypersaline gradient. *Front Microbiol.* 9:2018.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01492>
- Kost C, Patil KR, Friedman J, Garcia SL, Ralser M. 2023. Metabolic exchanges are ubiquitous in natural microbial communities. *Nat Microbiol.* 8:2244-2252.  
<https://doi.org/10.1038/s41564-023-01511-x>
- Langille MGI, Zaneveld J, Caporaso JG, McDonald D, Knights D, Reyes JA, Clemente JC, Burkepille DE, Vega Thurber RL, et al. 2013. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat Biotechnol.* 31(8):814-821.
- Lee KC, Webb RI, Janssen PH, Sangran P, Romeo T, Staley JT, Fuerst JA. 2009. Phylum Verrucomicrobia representatives share a compartmentalized cell plan with members of bacterial phylum Planctomycetes. *BMC Microbiol.* 9:5.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-5>
- Lyons KG, Brigham CA, Traut BH, Schwartz MW. 2005. Rare species and ecosystem functioning. *Conserv Biol.* 19(4):1019-1024.  
<https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00106.x>

- Mehrabi Z, Slade EM, Solís Á, Mann DJ. 2014. The importance of microhabitat for biodiversity sampling. *PLoS ONE*. 9(12):e114015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114015>
- [NASA POWER] National Aeronautics and Space Administration Prediction Of Worldwide Energy Resources. 2022. POWER Data Access Viewer; NASA POWER; [accessed August 2021]. <https://power.larc.nasa.gov/>
- Oksanen J, Simpson GL, Blinchet FG, Kindt R, Legendre P, Minchin PR, O'Hara RB, Solymos P, Stevens MHH, Szóecs E, et al. 2019. *vegan: Community Ecology Package*. v. 2.5-6. R package. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Oliart-Ros RM, Manresa-Presas Á, Sánchez-Otero MG. 2016. Utilización de microorganismos de ambientes extremos y sus productos en el desarrollo biotecnológico. *CiencUAT*. 11(1):79-90. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-78582016000200079&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-78582016000200079&lng=es&tlng=es)
- Oren A. 2002. Diversity of halophilic microorganisms: Environments, phylogeny, physiology, and applications. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 28(1):56-63. <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000176>
- Oren A. 2008. Microbial life at high salt concentrations: Phylogenetic and metabolic diversity. *Saline Syst*. 4:2. <https://doi.org/10.1186/1746-1448-4-2>
- Oren A. 2010. Industrial and environmental applications of halophilic microorganisms. *Environ Technol*. 31(8-9):825-834. <https://doi.org/10.1080/09593330903370026>
- Oren A. 2011. Thermodynamic limits to microbial life at high salt concentrations. *Environ Microbiol*. 13(8):1908-1923. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02365.x>
- Oren A. 2014. Industrial applications of halophilic microorganisms. In: *Industrial Biocatalysis*. Grunwald P (ed.). New York (United States): CRC Press. p. 283-308.
- Parada AE, Needham DM, Fuhrman JA. 2015. Every base matters: Assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. *Environ Microbiol*. 18(5):1403-1414. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13023>
- Pester M, Bittner N, Deevong P, Wagner M, Loy A. 2010. A "rare biosphere" microorganism contributes to sulfate reduction in a peatland. *ISME J*. 4:1591-1602. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.75>
- Ponce-López S. 2002. Propuesta para determinar el valor económico de algunos recursos naturales utilizados en la producción de sal marina por Exportadora de Sal S.A. de C.V. en Guerrero Negro, B.C.S. [MSc thesis]. Mexico: Instituto Politécnico Nacional. 85 p.
- Pusceddu A, Fiordelmondo C, Danocaro R. 2005. Sediment resuspension effects on the benthic microbial loop in experimental microcosms. *Microb Ecol*. 50(4):602-13. <https://doi.org/10.1007/s00248-005-5051-6>
- Robertson CE, Spear JR, Harris JK, Pace NR. 2009. Diversity and stratification of archaea in a hypersaline microbial mat. *Appl Environ Microbiol*. 75(7):1801-08. <https://doi.org/10.1128/AEM.01811-08>
- Rousk J, Bengtson P. 2014. Microbial regulation of global biogeochemical cycles. *Front Microbiol*. 5:103. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00103>
- RStudio Team. 2020. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC. Vienna (Austria): The R Project for Statistical Computing. <http://www.rstudio.com/>
- Sánchez-Cobarrubias GV, López-Calderón J, Ruiz-de la Torre MC, González-Silvera A. 2021. Estructura de la comunidad fitoplanctónica en Laguna Ojo de Liebre (B.C.S., México) en febrero de 2018. *Investig Cienc*. 29(83):25-35.
- Sañudo-Wilhelmy SA, Gobler CJ, Okbami Michael M, Taylor GT. 2006. Regulation of phytoplankton dynamics by vitamin B. *Geophys Res Lett*. 33:L04604. <https://doi.org/10.1029/2005GL025046>
- Sañudo-Wilhelmy SA, Cutter LS, Durazo R, Smail EA, Gómez-Consarnau LG, Webb EA, Prokopenko MG, Berelson WM, Karl DM. 2012. Multiple B-vitamin depletion in large areas of the coastal ocean. *Proc Natl Acad Sci USA*. 109(35):14041-14045. <https://doi.org/10.1073/pnas.1208755109>
- Sañudo-Wilhelmy SA, Gómez-Consarnau L, Suffridge C, Webb EA. 2014. The role of B vitamins in marine biogeochemistry. *Annu Rev Mar Sci*. 6:339-367. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120710-100912>
- Schlesner H, Stackebrandt E. 1987. Molecular phylogeny of the genera *Planctomyces* and *Pirellula* and the taxonomic outline of the family Planctomycetaceae. *Syst Appl Microbiol*. 9(3):174-176.
- Soto-López LJ. 2024. Procesos que controlan la química del sistema del carbono en Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. [BSc Thesis]. Mexico: Universidad Autónoma de Baja California. 50 p.
- Souza CP, Almeida BC, Colwell RR, Rivera IN. 2011. The importance of chitin in the marine environment. *Mar Biotechnol*. 13:823-830. <https://doi.org/10.1007/s10126-011-9388-1>
- Suzuki R, Shimodaira H. 2006. Pvcust: an R package for assessing the uncertainty in hierarchical clustering. *Bioinformatics*. 22(12):1540-1542. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl117>
- Thompson A, Lee C. 2020. The role of environmental physicochemical factors in shaping microbial communities. *Front Microbiol*. 11:895.
- Trombetta T, Bouget FY, Félix C, Mostajir B, Vidussi F. 2022. Microbial diversity in a North Western Mediterranean Sea shallow coastal lagoon under contrasting water temperature conditions. *Front Mar Sci*. 9:2022. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.858744>
- Valdivieso-Ojeda JA, Huerta-Díaz MA, Delgadillo-Hinojosa F, Otero XL, Arenas-Islas D, García-Orozco J. 2021. Sediment trace metal levels in the Ojo de Liebre Lagoonal Complex (Baja California, Mexico), a marine wildlife protected area. *Mar Pollut Bull*. 165:112097. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112097>
- Ventosa A, Nieto JJ, Oren A. 1998. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*. 62(2):504-44. <https://doi.org/10.1128/MMBR.62.2.504-544.1998>
- Ventura M, Canchaya C, Tauch A, Chandra G, Fitzgerald GF, Chater KF, van Sinceren D. 2007. Genomics of Actinobacteria: Tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiol Mol Biol Rev*. 71(3):495-548. <https://doi.org/10.1128/mmlbr.00005-07>
- Villa-Guerrero A. 2019. Circulación por marea y transporte de sedimento en el sistema lagunar Ojo de Liebre - Guerrero Negro. [MSc thesis]. Mexico: Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 48 p.
- Vraspir JM, Butler A. 2009. Chemistry of marine ligands and siderophores. *Annu Rev Mar Sci*. 1:43-63. <https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163712>
- Walters W, Hyde ER, Berg-Lyons D, Ackermann G, Humphrey G, Parada A, Gilbert JA, Jansson JK, Caporaso JG, Fuhrman JA, April A, Knight R. 2015. Improved bacterial 16S rRNA gene (V4 and V4-5) and fungal internal transcribed spacer marker gene primers for microbial community surveys. *mSystems*. 1(1):e00009-15. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00009-15>
- Wang L, Zhao HC, Bi R, Chen X, Lyu Z, Liu W. 2023. Roles and sources of B vitamins in the marine ecosystem. *Rev Fish Biol Fish*. 33:1-22. <https://doi.org/10.1007/s1160-023-09818-y>

- Wickham H. 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. New York (USA): Springer-Verlag. <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Widdel F, Rabus R. 2001. Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons. *Curr Opin Biotechnol*. 12(3):259-276. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00209-3](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00209-3)
- Wu Z, Li M, Qu L, Zhang C, Mie W. 2024 . Metagenomic insights into microbial adaptation to the salinity gradient of a typical short residence-time estuary. *Microbiome*. 12:115. <https://doi.org/10.1186/s40168-024-01817-w>
- Yarza P, Yilmaz P, Pruesse E, Glockner FO, Ludwig W, Schleifer KH, Whitman WB, Euzéby J, Amann R, Rosselló-Móra R. 2014. Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nat Rev Microbiol*. 12:635-645. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3330>
- Zamora-Quintero AY, Torres-Beltrán M, Guillén Matus DG, Oroz-Parra I, Millán-Aguiñaga N. 2022. Rare actinobacteria isolated from the hypersaline Ojo de Liebre Lagoon as a source of novel bioactive compounds with biotechnological potential. *Microbiology*. 168(2):001144. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001144>
- Zhou J, Bruns MA, Tiedje JM. 1996. DNA recovery from soils of diverse composition. *Appl Environ Microbiol*. 62(2):316-322. <https://doi.org/10.1128/aem.62.2.316-322.1996>