

Caracterización preliminar del microbioma asociado a interacciones coral-césped en arrecifes del Parque
Nacional Natural Tayrona

MIGUEL ÁNGEL MARTÍNEZ MORALES

Trabajo de grado en la modalidad de práctica profesionalizante para optar al título de Biólogo Marino

UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES E INGENIERÍA
PROGRAMA DE BIOLOGÍA MARINA
SANTA MARTA
2026

Caracterización preliminar del microbioma asociado a interacciones coral-césped en arrecifes del Parque Nacional Natural Tayrona

MIGUEL ÁNGEL MARTÍNEZ MORALES

Trabajo de grado en la modalidad de práctica profesionalizante para optar al título de Biólogo Marino

Tutor

SVEN ELOY ZEA SJOBERG

Biólogo Marino. Ph.D.

Profesor Titular

Universidad Nacional de Colombia–Sede Caribe

Profesor Monitor

ADOLFO SANJUAN MUÑOZ

Biólogo Marino. Doctor en Biodiversidad

Profesor tiempo completo

Universidad Jorge Tadeo Lozano

Asesora

Martha Catalina Gómez Cubillos

Bióloga Marina M. Sc.

Estudiante de doctorado

Universidad Nacional de Colombia–Sede Caribe

UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES E INGENIERÍA
PROGRAMA DE BIOLOGÍA MARINA
SANTA MARTA
2026

RESUMEN

Los arrecifes de coral del Caribe están atravesando un proceso de cambio de fase hacia comunidades dominadas por algas, alterando las interacciones biológicas y el microbioma del holobionte coralino. Esta investigación se llevó a cabo durante dos épocas climáticas contrastantes (lluviosa y seca) en arrecifes del Parque Nacional Natural Tayrona (Chengue y Granate), con el objetivo de caracterizar la carga microbiana (UFC/mL) y la actividad enzimática (amilolítica y proteolítica) en tres compartimientos: tejido coralino sano (Coral), borde de interacción (Borde) y esqueleto cubierto por céspedes algales (Césped), en las especies de coral *Montastraea cavernosa* y *Pseudodiploria strigosa*. Los resultados mostraron que la carga microbiana heterótrofa cultivable fue significativamente mayor en los compartimientos Borde y Césped en comparación con el Coral, con valores más altos durante la época lluviosa. El efecto de la especie no fue significativo. En cuanto a la actividad enzimática, Granate estuvo asociado a una mayor probabilidad de actividad enzimática. En conjunto, los resultados indican que los bordes de interacción coral-césped constituyen zonas de alta actividad microbiana, donde la carga de microorganismos heterótrofos y su potencial metabólico podrían estar asociados con procesos de degradación y muerte del tejido coralino. Asimismo, en ciertos arrecifes, como Granate, podrían favorecer la proliferación de consorcios microbianos con capacidades funcionales específicas. Estos hallazgos resaltan el papel de la microbiota asociada a los céspedes algales como un posible indicador de deterioro coralino y subrayan la importancia de los procesos microbianos en la resiliencia y dinámica de los arrecifes del Caribe colombiano.

Palabras clave: microbioma, interacciones coral-césped, *Montastraea cavernosa*, *Pseudodiploria strigosa*, PNN Tayrona, Caribe colombiano.

ABSTRACT

Caribbean coral reefs are undergoing a phase transition toward algal-dominated communities, altering biological interactions and the coral holobiont's microbiome. This research was carried out during two contrasting seasons (rainy and dry) on reefs of Tayrona National Natural Park (Chengue and Granate), with the aim of characterizing the microbial load (CFU/mL) and enzymatic activity (amylolytic and proteolytic) in three compartments: healthy coral tissue (Coral), the interaction zone (Edge), and the skeleton covered by algal turfs (Turf), in the coral species *Montastraea cavernosa* and *Pseudodiploria strigosa*. The results showed that the cultivable heterotrophic microbial load was significantly higher in the Edge and Mat compartments compared to Coral, with higher values during the rainy season. The effect of species was not significant. Regarding enzymatic activity, Granate was associated with a higher probability of enzymatic

activity. Taken together, the results indicate that coral-algal turf interfaces constitute zones of high microbial activity, where the abundance of heterotrophic microorganisms and their metabolic potential may be associated with processes of coral tissue degradation. Furthermore, in certain reefs, such as Granate, they may favor the proliferation of microbial consortia with specific functional capabilities. These findings highlight the role of the microbiota associated with algal turfs as a potential indicator of coral deterioration and underscore the importance of microbial processes in the resilience and dynamics of the Colombian Caribbean reefs.

Keywords: microbiome, coral-algal turf interactions, *Montastraea cavernosa*, *Pseudodiploria strigosa*, Tayrona National Park, Colombian Caribbean.

INTRODUCCIÓN

Los arrecifes coralinos son ecosistemas importantes y altamente productivos. Al estar constituidos principalmente por corales duros del orden Scleractinia contribuyen significativamente en procesos geomorfológicos y en la dinámica costera (Díaz *et al.*, 2000; Chasqui, 2020). A pesar de su relevancia ecológica, social y económica, estos ecosistemas han estado expuestos a diversas amenazas, principalmente por el estrés causado por actividades antropogénicas como la sobrepesca y la contaminación, que junto con el aumento de la temperatura y la acidificación oceánica, han provocado un declive en la cobertura coralina a nivel global (NOAA, 2016; Souter *et al.*, 2021; WWF, 2024).

En el Caribe los arrecifes de coral representan el ~9,7 % de la extensión mundial; sin embargo, entre 1980 y 2024 la cobertura de corales pétreos disminuyó un 48 % causado principalmente por eventos de blanqueamiento masivo inducidos por estrés térmico y enfermedades coralinas (Peters *et al.*, 1983; WWF, 2024; Wicquart *et al.*, 2025). Paralelo al declive coralino, se ha evidenciado un aumento en la cobertura de macroalgas, particularmente de algas con crecimiento cespitoso, lo cual es atribuido principalmente a la disminución de la herbivoría y en la calidad del agua producto de mayores aportes de nutrientes al medio, favoreciendo así su proliferación (Casey *et al.*, 2014; Harris *et al.*, 2015; Wicquart *et al.*, 2025).

Los arrecifes coralinos son escenarios de intensa competencia entre organismos bentónicos por el espacio y otros recursos y el resultado de estas interacciones (quien gana o pierde) es determinante en la estructuración de las comunidades coralinas (Díaz *et al.*, 2000; Fricke *et al.*, 2011; Granda *et al.*, 2016). En el Caribe colombiano, las interacciones entre corales masivos y céspedes algales son las más frecuentes y en general ocasionan pérdida adicional de tejido coralino (Gómez-Cubillos *et al.*, 2019). En este contexto, estudios

ecológicos en múltiples escalas, orientados a ampliar el conocimiento sobre las causas y consecuencias vinculadas con las interacciones coral-césped, son relevantes.

En arrecifes del Parque Nacional Natural Tayrona y la Reserva de la Biósfera Seaflower, las interacciones coral-césped se han explorado desde la influencia de gradientes ecológicos, la composición y estructura de los ensamblajes de céspedes, los cambios en la densidad de zooxantelas y concentración de pigmentos del tejido coralino y, los sedimentos acumulados en la interfaz (Gómez-Cubillos *et al.*, 2019; 2020; Benavides-Marchena *et al.*, 2026; Rodríguez-Mojica, 2025). Sin embargo, el conocimiento sobre las comunidades microbianas asociadas aún es limitado.

El holobionte coralino alberga diversos organismos, incluidos las algas endosimbióticas (zooxantelas) que suministran gran parte de los requerimientos energéticos del hospedero, transfiriendo el carbono fijado fotosintéticamente al coral (Falkowski *et al.*, 1984), y una gama muy diversa de bacterias, arqueas y eucariontes, que persisten como un microbioma distribuido desde su cavidad gástrica hasta su capa mucopolisacárida (Ducklow y Mitchell, 1979; Rosenberg *et al.*, 2007).

En general, las investigaciones en microbiología se han centrado en describir las comunidades microbianas asociadas al holobionte coralino y en menor proporción a los céspedes algales, particularmente con los patógenos que los corales duros como *Porites astreoides*, *Orbicella franksi* y *O. faveolata* pueden adquirir al interactuar con macroalgas en arrecifes del Atlántico (Ducklow y Mitchell, 1979; Rohwer *et al.*, 2001; Sweet *et al.*, 2013). Estos resultados mostraron que durante eventos de blanqueamiento coralino, inducidos por olas de calor, se puede alterar la composición del microbioma considerado “beneficioso” para el coral (Bourne *et al.*, 2008; Hester *et al.*, 2016; Rosenberg *et al.*, 2007). Otro elemento clave es que este microbioma también contiene microorganismos potencialmente patógenos para los corales, con capacidad de desencadenar brotes de enfermedades coralinas (epizootias), con potenciales efectos para la salud del ecosistema arrecifal, la resiliencia coralina y su cobertura bentónica a través del tiempo (Kushmaro *et al.*, 1997; Sweet *et al.*, 2013; Harris *et al.*, 2015; Vieira *et al.*, 2016; WWF, 2024; Wicquart *et al.*, 2025). Asimismo, hay evidencias que señalan que la adaptación de estos microbiomas a condiciones de estrés depende de la localización geográfica, profundidad, calidad del agua y salud coralina (Klaus *et al.*, 2005; Kooperman *et al.*, 2007; Hester *et al.*, 2016).

Esta investigación se desarrolló en el marco de la tesis doctoral titulada “*Papel de las interacciones coral-césped en las dinámicas de cambio de arrecifes coralinos del Caribe colombiano*”. Mediante técnicas de siembra en agares, se obtuvo información de unidades formadoras de colonias – UFC y consumo selectivo

de sustratos de muestras recolectadas en colonias experimentales de *Montastraea cavernosa* y *Pseudodiploria strigosa* en arrecifes del Parque Nacional Natural Tayrona (Chengue y Granate). La información obtenida contribuyó en la caracterización preliminar de consorcios microbianos asociados a bordes de interacción coral-césped, mucus coralino y esqueleto coralino cubierto por céspedes obtenidos en dos épocas climáticas contrastantes (junio y noviembre/diciembre de 2024).

ÁREA DE ESTUDIO

El escenario de investigación (Figura 1) comprende dos estaciones de muestreo localizadas en la ensenada de Granate (11° 17' 51,65" N; 74° 11' 35,16" W) y la bahía de Chengue (11° 19' 45,39" N; 74° 7' 41,37" W), departamento del Magdalena. La zona costera de la región de Santa Marta y dentro del Parque Nacional Natural Tayrona (PNN Tayrona) se caracteriza por la presencia de arrecifes coralinos franjeantes y de parche, así como por extensos tapetes coralinos, representativos del sistema arrecifal del Caribe colombiano (Díaz *et al.*, 2000). Su litología se conforma de rocas ígneas y metamórficas, limos arcillosos y cantos, en el que predomina la matriz de fondos sedimentarios con parches de formaciones coralinas. Sin embargo, sus ecosistemas arrecifales se encuentran en un estado de deterioro (Herrera *et al.*, 2006; Londoño *et al.*, 2020).

Los patrones climáticos en el área de estudio, al igual que en el Caribe colombiano, están determinados por el desplazamiento latitudinal de la Zona de Convergencia Intertropical (ZCIT) y por la ocurrencia de eventos climáticos dominantes: una época seca mayor (diciembre-abril), una época lluviosa mayor (septiembre-noviembre) y, dos periodos de transición, correspondientes a un periodo seco menor (julio-agosto) conocido como “Veranillo de San Juan” y un periodo lluvioso menor (mayo-junio) (Franco-Herrera, 2005; INVEMAR, 2015; INVEMAR, 2018).

En la época seca mayor predominan vientos intensos del norte y el noreste, conocidos como vientos alisios (Díaz *et al.*, 2000), que favorecen la ocurrencia de un evento de surgencia caracterizado por el afloramiento de aguas subsuperficiales que bajan la temperatura superficial hasta los 24,6 °C y mantienen una salinidad de hasta 35 (Müller, 1979; Ramírez, 1983; Díaz *et al.*, 2000; Zea y Espada, 2020). En contraste, durante la época lluviosa mayor, se registra una disminución en la intensidad de los vientos alisios y un aumento en el aporte de aguas continentales provenientes de sistemas como los ríos Gaira, Manzanares y Magdalena, así como de la Ciénaga Grande de Santa Marta. Estas condiciones inducen temperaturas superficiales de hasta 34,7 °C y una disminución en la salinidad cercana a 30 (Müller, 1979; Ramírez, 1983; Díaz *et al.*, 2000; INVEMAR, 2015; Zea y Espada, 2020).

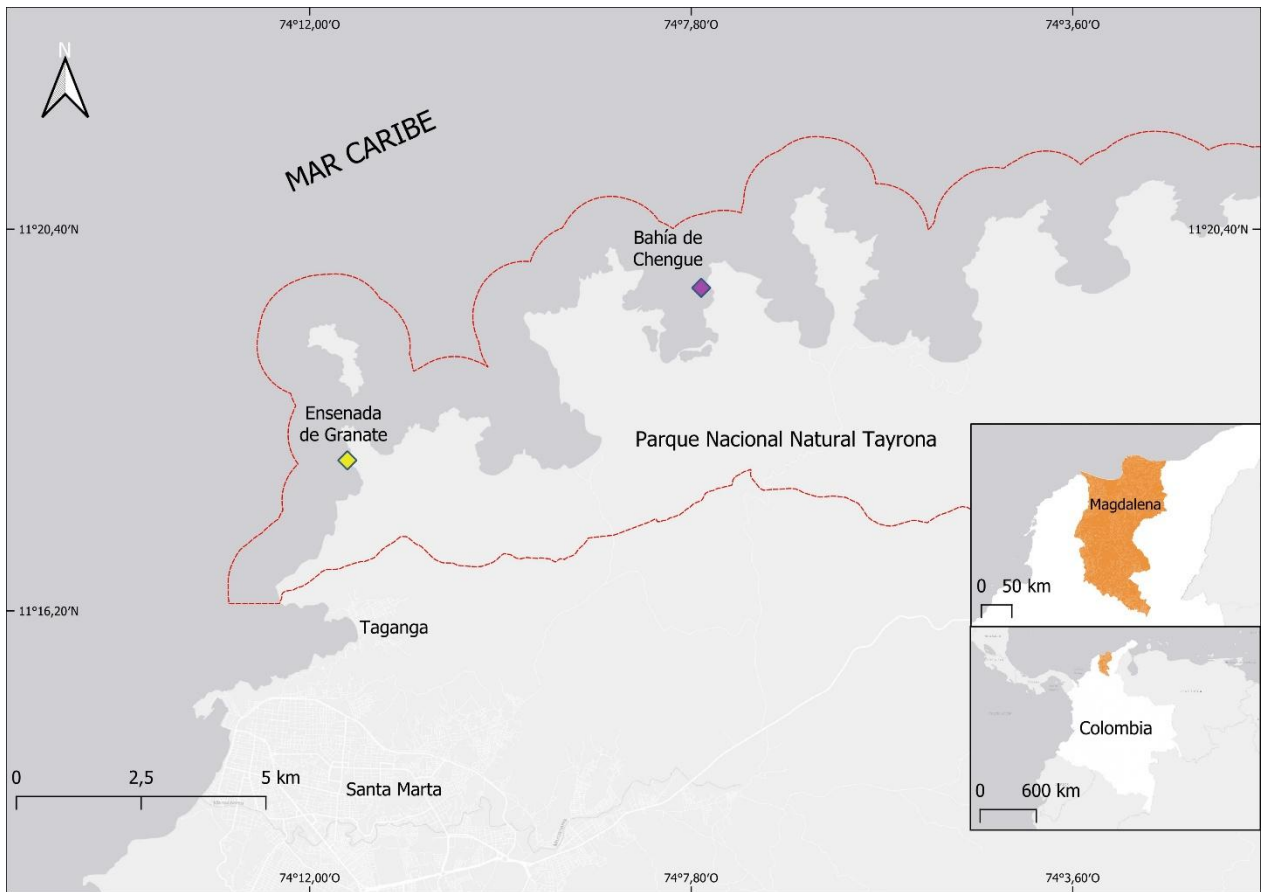


Figura 1. Estaciones de muestreo ubicadas en la ensenada de Granate y la bahía de Chengue en el PNN Tayrona, Caribe colombiano. La línea punteada representa el polígono del área protegida.

En el área de Santa Marta y el PNN Tayrona, la descarga continental y las corrientes predominantes generan un gradiente de perturbación con dirección SW-NE principalmente acentuando sus efectos sobre la ensenada de Granate (Zea, 1994). En la bahía de Chengue los arrecifes se desarrollan sobre un talud de hasta 30 m de profundidad (Díaz *et al.*, 2000; Martínez y Acosta, 2005).

METODOLOGÍA

FASE DE CAMPO

En junio y noviembre/diciembre de 2024, en dos arrecifes del PNN Tayrona (**Chengue** y **Granate**), mediante buceo autónomo SCUBA, se recolectaron muestras con la técnica de succión con jeringa (Gómez-Cubillos *et al.*, 2020). En total, se muestrearon 24 colonias experimentales de *M. cavernosa* (n = 12) y *P. strigosa* (n = 12), las cuales han sido monitoreadas desde 2023 en el marco de la tesis doctoral “*Papel de las interacciones coral-césped en las dinámicas de cambio de arrecifes coralinos del Caribe colombiano*”.

En cada colonia, se recolectaron muestras superficiales de tres compartimientos: (a) borde de interacción coral-césped (**Borde**), (b) mucus de tejido coralino sano (**Coral**) y (c) esqueleto coralino cubierto con céspedes algales (**Césped**) (Figura 2). Dependiendo del compartimiento evaluado, las muestras estuvieron compuestas por una mezcla de agua intersticial, sedimentos, mucus coralino y detritus. Adicionalmente, en cada arrecife y campaña de muestreo, se recolectaron tres muestras de agua de mar como controles ambientales.



Figura 2. Recolecta de muestras para análisis microbiológicos. Compartimiento: esqueleto de *Pseudodiploria strigosa* con céspedes algales. **Foto:** María José Herrera.

Para la obtención de las muestras, se delimitó un área en cada compartimiento utilizando un marco plástico rectangular de 3 cm² (3 cm de largo × 1 cm de ancho - simulando un campo quirúrgico), previamente esterilizado en autoclave y almacenado en bolsas resellables con agua de mar estéril. Posteriormente se realizó un barrido del área delimitada utilizando una jeringa estéril de 20 mL succionando cuidadosamente los sedimentos y el agua intersticial contenidos dentro del área delimitada por el dispositivo (Gómez-Cubillos *et al.*, 2020). Las muestras recolectadas fueron transportadas al laboratorio en condiciones de oscuridad y refrigeración (-4 °C).

FASE DE LABORATORIO

En laboratorio, cada muestra fue subdividida en cuatro submuestras (Tabla 1) y, preservadas de acuerdo con el análisis posterior a realizar (García y Uruburu, 2000; Rain-Franco *et al.*, 2021). Cada submuestra se etiquetó siguiendo la siguiente nomenclatura (submuestra+arrecife+especie+compartimiento = A-Ch-MCAV-coral).

Tabla 1. Organización de las submuestras según análisis posteriores.

Submuestra	Volumen	Técnica de preservación	Análisis
A	~6 mL	Congelación -20 °C	Extracción de ADN
B	~2 mL	Congelación -20 °C + crioprotector DMSO 5 %	Inoculación y conteo # UFC/mL
C	~6 mL	Congelación -20 °C + crioprotector DMSO 5 %	Consumo de sustratos (macromoléculas)
D	~6 mL	Congelación -20 °C	Densidad celular # cél/mL

La estandarización de los protocolos para el cultivo en agares y la determinación de la actividad proteolítica y amilolítica se realizó a partir de la revisión de guías metodológicas (Atlas, 2010; Cappuccino y Welsh, 2017), complementada con la asesoría de personal especializado del Laboratorio de Bioprospección Marina (LABBIM) del INVEMAR.

Para esta investigación, la temperatura de incubación de los experimentos se fijó a partir de los datos registrados (promedio mañana 06:00 a.m.-12:00 p.m.) en cada arrecife (**Granate** y **Chengue**) durante la campaña de recolecta de las muestras (Tabla 2). Además, se realizaron incubaciones preventivas por 24 h, para descartar contaminación de los medios de cultivo antes de la siembra. Según el experimento, estas incubaciones se realizaron después de servir el medio y de realizar procedimientos previos a la inoculación (ej. perforación pozos).

Tabla 2. Temperatura (°C) de incubación de las muestras, considerando la fecha de muestreo.

Arrecife	Mes de colecta	Temperatura promedio del agua	Desviación estándar (±)
Granate	Junio	29.0 °C	2.33
	Diciembre	28.7 °C	2.52
Chengue	Junio	29.1 °C	0.48
	Noviembre	29.4 °C	0.20

Experimento 1. Obtención de microorganismos cultivables: conteo de unidades formadoras de colonias (UFC)

Los agares selectivos seleccionados fueron: a) Agar Marino Artificial (**AM**) preparado con agua de mar estéril; este agar permite el crecimiento de bacterias marinas heterótrofas (Oppenheimer y ZoBell, 1952; Kester *et al.*, 1967; Applegate y Erkenbrecher, 1987; Cortez *et al.*, 2013); b) Agar International *Streptomyces* Project 2 (**ISP2**); este agar permite el crecimiento de actinobacterias, microorganismos importantes para la salud coralina (Shirling y Gottlieb, 1966; Ravel *et al.*, 2000; Atlas, 2010; Zaneveld *et al.*, 2016) c) Agar Extracto de Malta (**EM**), preparado con estreptomycin (1 mL) para inhibir el crecimiento de bacterias y

favorecer el crecimiento de hongos y levaduras (Marrero *et al.*, 2005; Atlas, 2010; Cappuccino y Welsh, 2017).

Los medios de cultivo se prepararon siguiendo las especificaciones de la [Tabla 3](#) y la [Figura 3A](#). En general, por medio, se pesó en balanza analítica Sartorius y llevó a volumen los reactivos para 600 mL en un frasco Schott de 1000 mL. La mezcla se homogenizó con agitador magnético en una plancha de agitación magnética Thermo Scientific Cimarec + sin calentar, usando hidróxido de sodio (NaOH) y pH-metro Thermo Scientific Orion Star A211 se ajustó el pH. Luego se adicionó el agar bacteriológico y en la plancha (200 °C/~2 h) se garantizó una dilución adecuada del agar. Los medios de cultivo se llevaron a esterilización en autoclave Sturdy, SA-300VF a 15 psi y 200 °C por 2 h ([Figura 3A](#)).

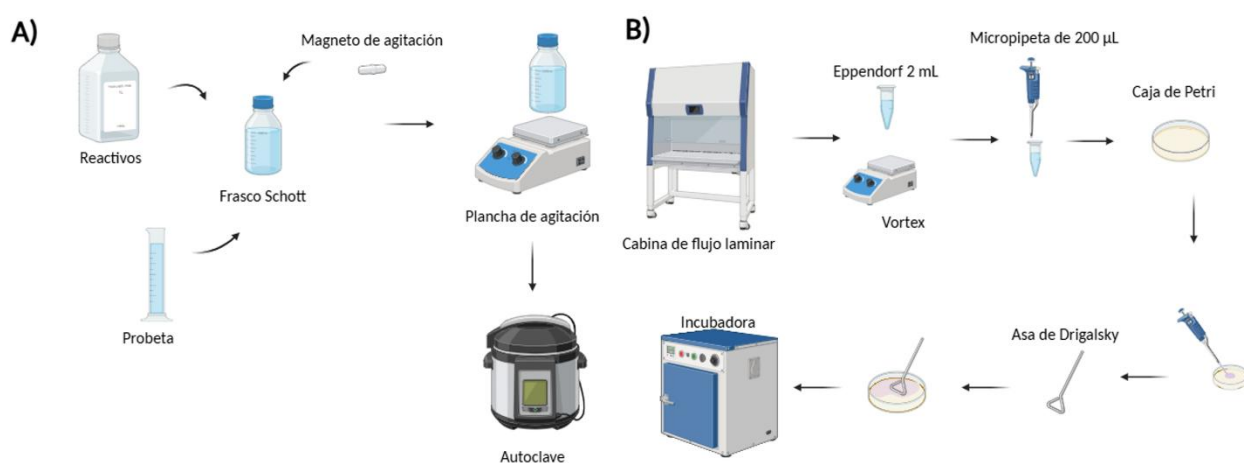


Figura 3. A) Preparación de medios de cultivo y **B)** inoculación e incubación de las muestras microbiológicas pertenecientes a los distintos compartimientos de las colonias de coral.

Para la inoculación de los medios de cultivo se utilizó una cabina de flujo laminar C4, FLH-120 ([Figura 3B](#)). Siguiendo la técnica descrita por [Cappuccino y Welsh \(2017\)](#) se hicieron ajustes metodológicos, previamente validados con pruebas piloto ([Tabla 3](#)). Para la siembra, cada muestra se homogenizó con vórtex (15 s) y 100 microlitros (μL) se inocularon en una placa mediante la técnica de placa extendida ([Figura 4](#)).

Tabla 3. Variaciones metodológicas para la preparación e inoculación en agares para el conteo de UFC.

Medio de cultivo	Tiempo de lectura (h)	pH	Modificaciones
AM-Agar Marino Artificial	24-48-72	7.4 ± 0.5	Agua marina artificial (10 %)
ISP2-Agar International <i>Streptomyces</i> Project 2	24-48-72	7.2 ± 0.5	Glucosa, maltosa y pH

EM-Agar Extracto de Malta	72-96-168	5.4 ± 0.5	Glucosa, estreptomicina (1 % p/v) y pH
----------------------------------	-----------	-----------	--

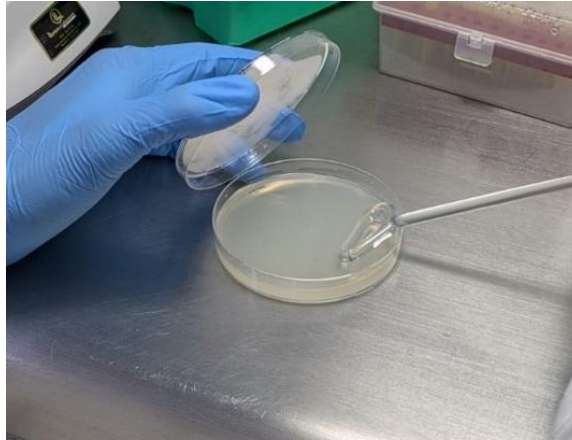


Figura 4. Técnica de placa extendida en AM para el cultivo de microorganismos marinos heterótrofos. Foto: Camila Rodríguez.

El conteo de UFC se realizó en tres tiempos de lectura (Tabla 3) (Shirling y Gottlieb, 1966; Marrero *et al.*, 2005; Cappuccino y Welsh, 2017). Por conteo se tomaron 2 fotografías con cámara Ultra Pixel de 50 MP a una distancia focal de 15 cm. La primera, después de la incubación y la segunda con marcas de colonias nuevas por conteo. Para cada conteo se utilizó un color de marca diferente (Figura 5).

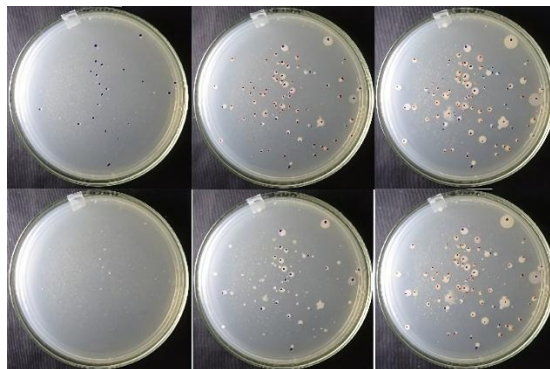


Figura 5. Muestra Borde *Montastraea cavernosa* inoculada en AM durante 24 h (izquierda), 48 h (centro) y 72 h (derecha). Foto: Miguel Martínez.

Experimento 2. Cultivo en sustratos selectivos: determinación de la actividad proteolítica y amilolítica

Para la caracterización metabólica (Cappuccino y Welsh, 2017) de los microorganismos asociados a los compartimientos **Coral**, **Borde** y **Césped**, se realizó a través de ensayos de consumo de sustratos selectivos, medibles a partir de la hidrólisis de macromoléculas como las proteínas encontradas en la caseína de la leche

y los carbohidratos provistos por el almidón, hidrólisis evidenciada mediante la formación de halos traslúcidos alrededor del lugar de inoculación (Figura 6).

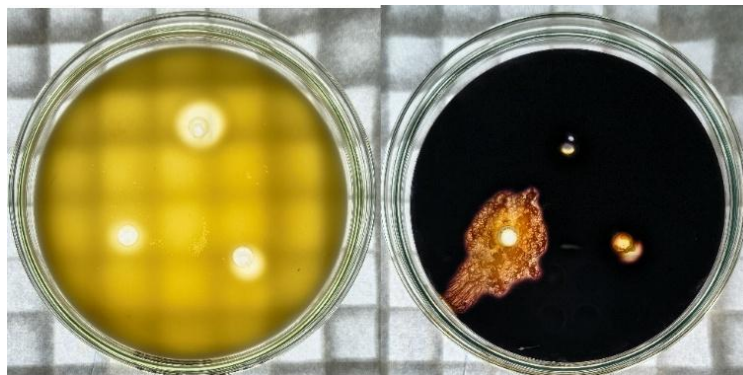


Figura 6. Hidrólisis de macromoléculas por parte de los compartimientos de *Montastraea cavernosa*. Izquierda actividad proteolítica y derecha actividad amilolítica. Nótese el crecimiento de microorganismos en el compartimiento Césped en el medio para determinar actividad amilolítica. Foto: Miguel Martínez.

Para ello, se prepararon dos medios de cultivo (Tabla 4), que fueron previamente evaluados para confirmar su fiabilidad (actividad enzimática) (Atlas, 2010; Cappuccino y Welsh, 2017). Cada medio se suplementó con agua marina artificial estéril y se esterilizó con autoclave (15 psi/200 °C) (Kester *et al.*, 1967; Applegate y Erkenbrecher, 1987).

La preparación de los medios de cultivo se llevó a cabo con las especificaciones de la Tabla 4 y la Figura 7C. Los reactivos de los medios de cultivo fueron pesados y llevados a un volumen de 700 mL en un frasco Schott de 1000 mL y posteriormente llevados a esterilizar en autoclave. En el caso del medio de cultivo para actividad proteolítica, en otro frasco Schott se preparó una solución de leche desnatada (en 400 mL de agua destilada) esterilizada en autoclave. En cabina de flujo laminar, se adicionó al agar el suplemento de leche sobre una plancha de agitación magnética (60 °C) hasta homogenizar por completo. (Cappuccino y Welsh, 2017).

Después de servidos, dentro de la cabina de flujo laminar, las placas se sometieron al método de perforación (Figura 7D). Con ayuda de una pipeta Pasteur de 4 mm estéril se perforaron 3 pozos y, con un asa recta estéril por calor se retiró el agar residual. Luego, cada pozo se selló con ~20 µL de agar bacteriológico que se mantuvo a un pH de $7,3 \pm 0,5$ (Kondo, 1976; Cortez *et al.*, 2013).

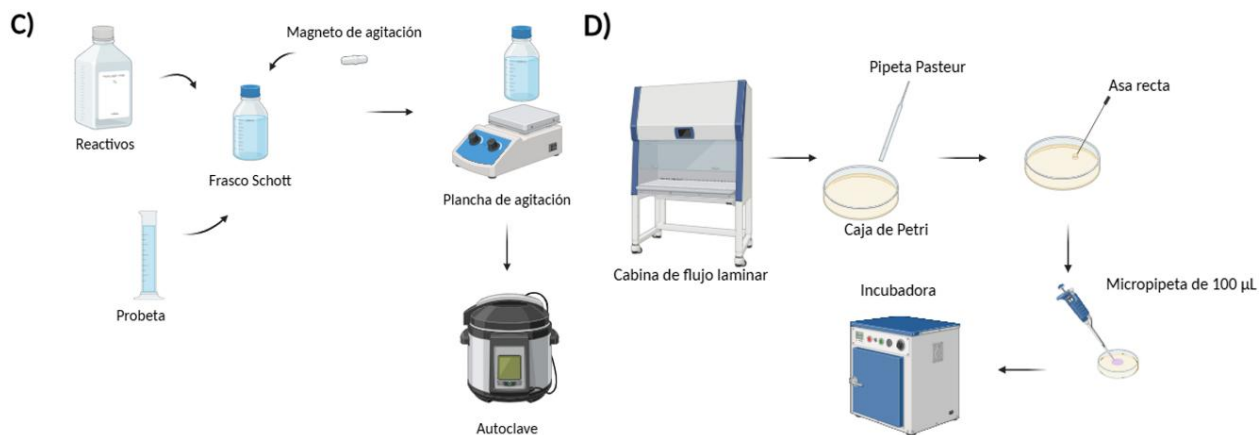


Figura 7. C) Preparación de medios de cultivo y D) inoculación mediante el método de perforación e incubación de las muestras microbiológicas.

Tabla 4. Variaciones metodológicas para la preparación e inoculación de sustratos selectivos para actividad enzimática.

Sustrato	Tiempo de lectura (h)	pH	Modificaciones
PR-Agar con leche desnatada BD DIFCO-Proteína	48	7.2 ± 0.5	Agua marina artificial (10 %)
AML-Agar con Sigma Aldrich-Almidón	48	7.5 ± 0.5	Agua marina artificial (10 %)

Posteriormente, las placas se inocularon con 3 muestras (una en cada pozo), correspondientes a los 3 compartimientos evaluados para cada colonia experimental (**Coral**, **Borde** y **Césped**). Cada muestra se homogenizó con vórtex (15 s) y se inoculó ~20 µL por pozo. La estimación del consumo se realizó a las 48 h, tiempo estimado por pruebas piloto, donde se confirmó la lectura de la actividad enzimática y se evitó el solapamiento de halos de consumo (Cappuccino y Welsh, 2017).

Para el agar **AML** se realizó un tratamiento post incubación para poder observar el halo de consumo, usando una solución de lugol de gram y agua destilada. Sobre cada placa de Petri se vació esta solución (~5 mL) y se dejó actuar entre 30 y 60 s con ayuda de movimientos circulares. Luego se eliminó el exceso de solución por vaciado (Atlas, 2010; Cappuccino y Welsh, 2017; Gómez-Villegas *et al.*, 2021; Muriithi *et al.*, 2022).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se organizaron en tablas y gráficos dinámicos en Microsoft Excel separados por medios de cultivo. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa RStudio versión 4.2.2 (R Core Team, 2022).

Experimento 1. Obtención de microorganismos cultivables: conteo de unidades formadoras de colonias (UFC)

Por placa (muestra) se calculó la densidad total hasta la última lectura de colonias, expresada en UFC por mililitro, a partir de la siguiente ecuación (Cappuccino y Welsh, 2017):

$$UFC * ml^{-1} = \frac{N * FD}{V}$$

Siendo:

- N: sumatoria del número de colonias en superficie de placa contadas en los tres tiempos de lectura.
- FD: factor de dilución igual al volumen final (volumen del diluyente + volumen de la muestra) / volumen de la muestra.
- V: volumen añadido a la placa (volumen inoculado en las cajas de Petri).

Los datos de la carga microbiana cultivable se organizaron en tablas por especie coralina y medio de cultivo (AM, ISP2 y EM). La variable respuesta fue la abundancia de microorganismos, expresada como **unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL)**. Por conjunto de datos, se calcularon los estadísticos descriptivos mediana (Mdn), rango intercuartílico (RIC) y no se eliminaron los datos atípicos. Luego, se evaluaron diferencias para los siguientes factores categorizados: compartimiento (**Co**: Coral, Borde, Césped), época climática (**Ep**: lluviosa y seca), arrecife (**Ar**: Chengue y Granate) y especie (**Es**: *M. cavernosa* y *P. strigosa*).

Para la variable respuesta (UFC/mL o carga microbiana) y por agar, los datos obtenidos no cumplieron con el supuesto de normalidad evaluada con la prueba de Shapiro-Wilk (Shapiro y Wilk, 1965), pero sí la homocedasticidad determinada con la prueba de Levene (Levene, 1960); se decidió transformar los datos con $\log_{10}(UFC/mL + 1)$ y, así reducir la influencia de valores atípicos, adicionando una unidad para evitar errores asociados a la presencia de ceros antes de aplicar el logaritmo y para considerar el mínimo de detección de la técnica de inoculación en agares (FAO, 2016; Sandle, 2025). Una vez transformados, se repitieron de nuevo las pruebas y estas arrojaron los mismos resultados. Por ello, se decidió utilizar análisis no paramétricos.

Mediante un análisis de varianza permutacional univariado (PERMANOVA) se evaluaron las diferencias significativas entre **Es** y **Co**, análisis que no mostró diferencias significativas ($p > 0,05$). Posteriormente, se

realizaron PERMANOVAs independientes para cada **Co** (Borde, Césped y Coral), evaluando el efecto de **Ep** y **Ar** y su interacción (**Ep** × **Ar**). En caso de que existieran diferencias, se realizó una prueba de análisis multivariante de varianza permutacional por pares (*PAIRWISE*) para verificar la procedencia de esas diferencias (Anderson *et al.*, 2008; Anderson, 2017).

Para determinar diferencias entre los niveles de **Co** (Borde, Césped y Coral) para cada especie, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis (*KW*). En los casos donde se encontraron diferencias, se aplicó la prueba de Dunn con corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples por pares para controlar el error tipo I. Con excepción de los datos de *P. strigosa* en **Extracto de Malta**, debido a que los datos del compartimiento **Coral** fueron cero. En este caso se excluyó al compartimiento **Coral** y se evaluaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Al no cumplir los supuestos, se utilizó la prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney (*WMW*) para probar las diferencias significativas (Zar, 2010; Agresti, 2002).

Al no encontrar diferencias significativas entre la interacción de **Es** y **Co**, se procedió a analizar los datos separados por especie con la misma prueba (PERMANOVA), y ya que la mayor variabilidad se presentó en **Co** ($p = 0,01 \times 10^{-2}$) en los medios **AM** e **ISP2**, se procedió a realizar análisis independientes por especie. Bajo este nuevo esquema, se evaluó el efecto de **Ep**, **Ar** y la interacción **Ep** × **Ar** dentro de cada uno de los niveles de **Co** (Borde, Césped y Coral). En caso de que estos resultados fueran significativos, se procedió a realizar una prueba de análisis multivariante de varianza permutacional por pares (*PAIRWISE*) para identificar la procedencia de las diferencias (Anderson *et al.*, 2008; Anderson, 2017).

Experimento 2. Cultivo en sustratos selectivos: determinación de actividad proteolítica y amilolítica

La actividad enzimática se registró como una variable binaria, donde el valor 1 indicó la presencia de actividad y 0 la ausencia de actividad enzimática. El análisis estadístico descriptivo se realizó con las frecuencias absolutas y relativas (%) para los factores categorizados **Ep**, **Ar**, **Es** y **Co** (Zar, 2010).

El efecto de los factores ambientales y biológicos sobre la actividad enzimática (proteolítica y amilolítica), se evaluó a través de modelos lineales generalizados (MLG) de la familia binomial con una función de enlace logit. Se generó un modelo general, por especie coralina y medio de cultivo (Dobson, 2001).

La selección del modelo se basó en el Criterio de Información de Akaike (AIC), priorizando la parsimonia y la estabilidad de los errores estándar. Para la visualización de coeficientes, se calculó *Odds Ratio* (OR), que permiten estimar la probabilidad marginal de presencia de actividad para cada factor. Además, la significancia del predictor (COMPARTIMIENTO) se evaluó mediante un Análisis de Varianza (ANOVA)

con una prueba de Chi-cuadrado de Wald. Para las variables significativas, se realizaron comparaciones por pares de las medias marginales estimadas (EMMs por sus siglas en inglés), transformando los resultados a la escala de la respuesta para una interpretación directa. La robustez y estabilidad de los modelos globales y específicos por especie se garantizó mediante un diagnóstico de multicolinealidad a través del factor de inflación de la varianza (VIF), asegurando valores cercanos a la unidad ($VIF < 1,10$) en todos los modelos predictores (Dobson, 2001; Zar, 2010).

Adicionalmente, se realizaron análisis de contingencia para evaluar la distribución de la actividad enzimática en cada especie de forma independiente. Para el factor **Arrecife**, se utilizó la prueba Chi-cuadrado. En el caso del factor **Compartimiento**, debido a que algunas categorías presentaron frecuencias esperadas menores a cinco ($n < 5$), se utilizó la Prueba Exacta de Fisher, y cuando se presentaron diferencias significativas, se usó una prueba por pares con la corrección de Benjamini y Hochberg (BH) para evitar el error tipo I. Estos análisis permitieron validar si la presencia de actividad enzimática era independiente del arrecife o de la zona de interacción coral-césped (Zar, 2010).

RESULTADOS

Experimento 1. Obtención de microorganismos cultivables: conteo de unidades formadoras de colonias (UFC)

Agar Marino

General

El valor máximo para **Borde** se encuentra en la época **lluviosa-Granate** (3411 UFC/mL) con una Mdn de 253 UFC/mL (RIC = 3108). En contraste, **Césped** presentó un máximo en la época **lluviosa-Chengue** 3200 UFC/mL, y una Mdn de 184 UFC/mL (RIC = 3032). Por otro lado, el valor máximo para **Coral** se registró en **lluviosa-Granate** 3168 UFC/mL, destacando con una Mdn de 237 UFC/mL (RIC = 1634), la más alta entre los tres compartimientos (Figura 8).

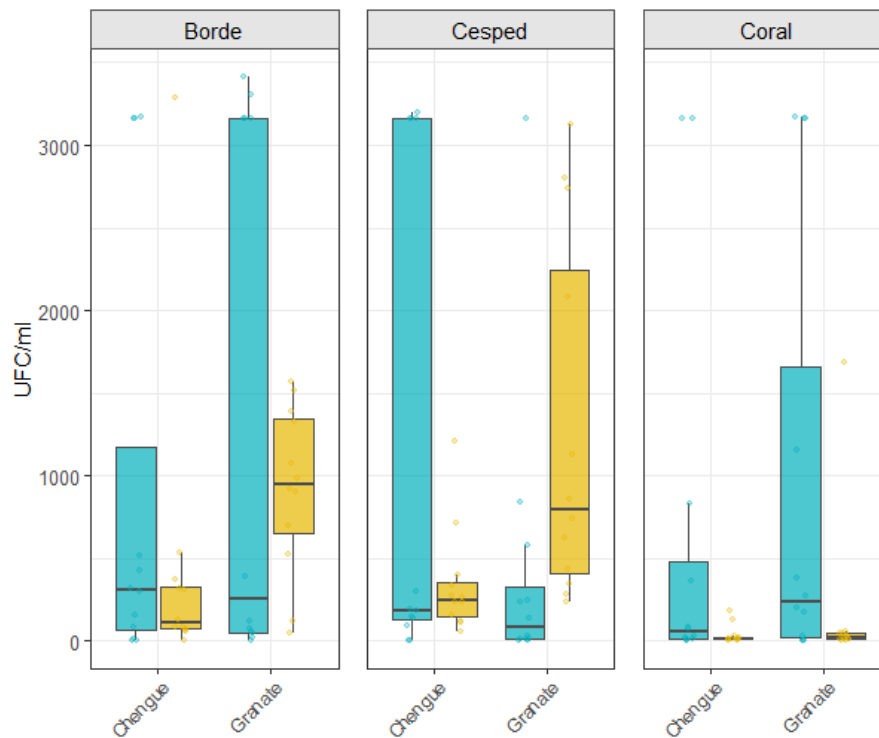


Figura 8. Diagrama de cajas y bigotes de los tres compartimientos en dos épocas climáticas y arrecifes ($n = 144$). Azul (lluviosa) y amarillo (seca). La línea central representa la mediana (Mdn), la caja representa el rango intercuartílico (RIC), los bigotes representan valores máximos y mínimos y los puntos representan valores atípicos.

No se encontraron diferencias significativas en la interacción **Es** \times **Co** (PERMANOVA, $R^2 = 0,13 \times 10^{-2}$; $p = 0,89$). Sin embargo, **Co** mostró diferencias muy significativas (PERMANOVA, $R^2 = 0,12$; $p = 0,01 \times 10^{-2}$). Las comparaciones por pares evidenciaron diferencias entre **Borde** y **Coral** (PAIRWISE, $R^2 = 0,14$; $p = 0,01 \times 10^{-2}$) y entre **Césped** y **Coral** (PAIRWISE, $R^2 = 0,13$; $p = 0,06 \times 10^{-2}$).

La evaluación individual por cada **Co** mostró que **Borde** no presentó diferencias significativas debido a la época climática (PERMANOVA, $R^2 = 0,01$; $p = 0,53$), pero en **Césped** (PERMANOVA, $R^2 = 0,12$; $p = 0,01$) y **Coral** (PERMANOVA, $R^2 = 0,11$; $p = 0,03$) sí se registraron diferencias. El factor **Ar** no mostró un efecto significativo sobre la variabilidad de los niveles de **Co** (PERMANOVA, $R^2 = 0,01$; $p = 0,48$). No obstante, para **Césped** la interacción **Ep** \times **Ar** presentó diferencias significativas (PERMANOVA, $R^2 = 0,08$; $p = 0,03$), siendo estas en **seca** entre los niveles de **Ar** (PAIRWISE, $R^2 = 0,36$; $p = 0,04 \times 10^{-2}$) y para **Granate** entre los niveles de **Ep** (PAIRWISE, $R^2 = 0,36$; $p = 0,14 \times 10^{-2}$).

Comparación entre compartimientos en *M. cavernosa* y *P. strigosa*

La carga microbiana varió entre los niveles de **Co** (Anexo A y Figura 9). Los valores más altos se presentaron en el compartimiento **Borde** para ambas especies. La Mdn en **Borde** fue 311 UFC/mL (RIC = 1082) con un máximo de 3411 UFC/mL para *M. cavernosa* y Mdn = 405 UFC/mL (RIC = 1305) para *P. strigosa* con un máximo de 3284 UFC/mL. En **Césped** de *M. cavernosa* la Mdn = 253 UFC/mL (RIC = 655) y en *P. strigosa* Mdn = 316 UFC/mL (RIC = 768). En **Coral**, para *M. cavernosa* su mediana fue 16 UFC/mL (RIC = 187) y en *P. strigosa* Mdn = 37 UFC/mL (RIC = 174).

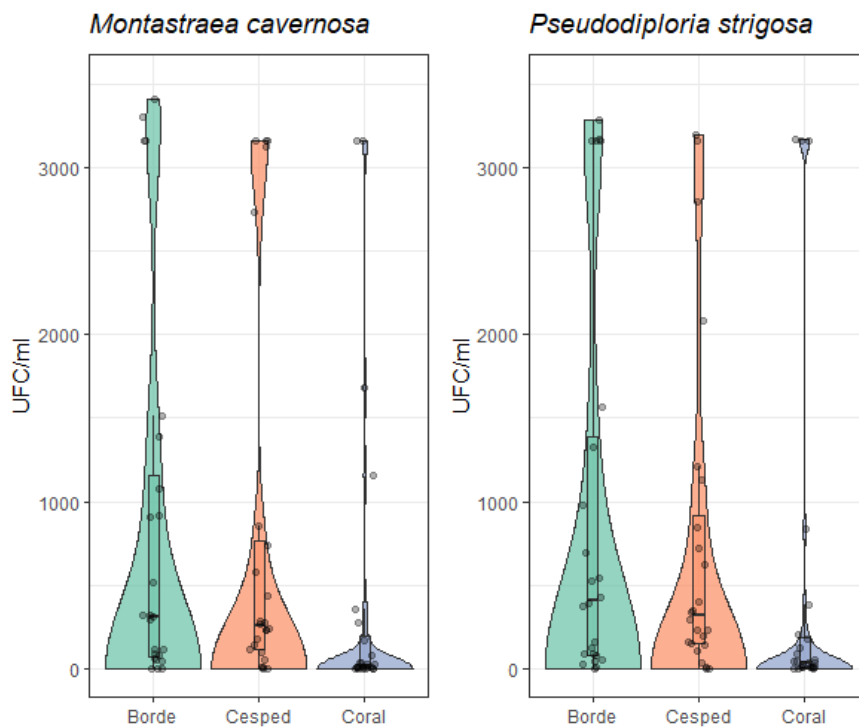


Figura 9. Diagrama tipo violín para *M. cavernosa* (n = 72) y *P. strigosa* (n = 72). La curva representa la distribución de los datos, la línea central representa la mediana (Mdn), la caja representa el rango intercuartílico (RIC), los bigotes representan valores máximos y mínimos y los puntos representan valores atípicos.

En Agar Marino (AM), la carga microbiana de *M. cavernosa* mostró diferencias significativas entre los compartimientos evaluados ($KW, p = 0,01$). La prueba de Dunn con corrección mostró diferencias entre **Coral-Borde** ($p = 0,01$) y entre **Coral-Césped** ($p = 0,02$). Esta tendencia fue similar en *P. strigosa* ($KW, p = 0,01$), con diferencias entre **Coral-Borde** ($p = 0,01$) y entre **Coral-Césped** ($p = 0,02$).

Efecto de la época climática y el arrecife sobre *M. cavernosa* y *P. strigosa*

En colonias de *M. cavernosa*, los valores máximos en el **Borde** se presentaron en la época **lluviosa-Granate** [3411 UFC/mL con una Mdn = 95 UFC/mL (RIC = 2458)]; no obstante, en **seca-Granate** la Mdn fue 995 UFC/mL (RIC = 403). Para el compartimiento **Césped**, el valor máximo también fue en **lluviosa** con independencia del **Ar** [**Chengue**: 3158 UFC/mL (Mdn = 137, RIC = 2389) y **Granate**: 3158 UFC/mL (Mdn = 189 UFC/mL, RIC = 453)]. En el compartimiento **Coral**, la carga microbiana más alta fue en **lluviosa-Chengue** [3158 UFC/mL (Mdn = 216 UFC/mL, RIC = 2424)] (Figura 10).

El PERMANOVA, mostró que para *M. cavernosa* ($R^2 = 0,06$; $p = 0,08$) la **Ep** no tiene un efecto significativo sobre **Co**, al igual que los **Ar** (PERMANOVA, $R^2 = 0,02$; $p = 0,47$). Los resultados del análisis a tres vías revelan que en *M. cavernosa* la interacción (**Ep** × **Ar** × **Co**) tampoco fue significativa (PERMANOVA, $R^2 = 0,01$; $p = 0,68$).

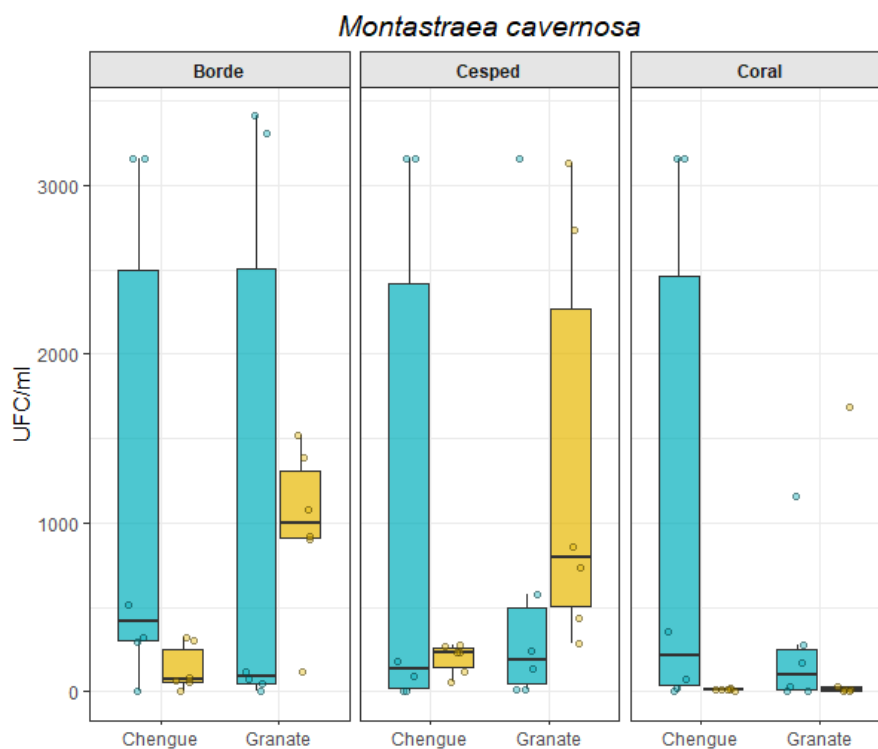


Figura 10. Diagrama de cajas y bigotes de los compartimientos de *M. cavernosa* ($n = 72$). Azul (lluviosa) y amarillo (seca). La línea central representa la mediana (Mdn), la caja representa el rango intercuartílico (RIC), los bigotes representan valores máximos y mínimos y los puntos representan valores atípicos.

Para *P. strigosa*, los valores máximos para **Borde** fueron de 3284 UFC/mL en **seca-Chengue** (Mdn = 247 UFC/mL (RIC = 400)); no obstante, la Mdn de **lluviosa-Granate** fue 1774 UFC/mL (RIC = 3021). Para **Césped** el máximo fue en **lluviosa-Chengue** [3200 UFC/mL (Mdn = 242 UFC/mL, RIC = 2284)]. En el compartimiento de **Coral**, el máximo fue en **lluviosa-Granate** [3168 UFC/mL (Mdn = 1768 UFC/mL, RIC = 2913)] (Figura 11).

El PERMANOVA, mostró que la **Ep** tiene un efecto significativo sobre los niveles de **Co** en *P. strigosa* ($R^2 = 0,08$; $p = 0,03$). Las comparaciones por pares revelaron que solo **Césped** registra diferencias (*PAIRWISE*, $R^2 = 0,16$; $p = 0,48 \times 10^{-1}$). En contraste, el **Ar** no ejerce un efecto significativo sobre los niveles de **Co** (PERMANOVA, $R^2 = 0,07$; $p = 0,05$).

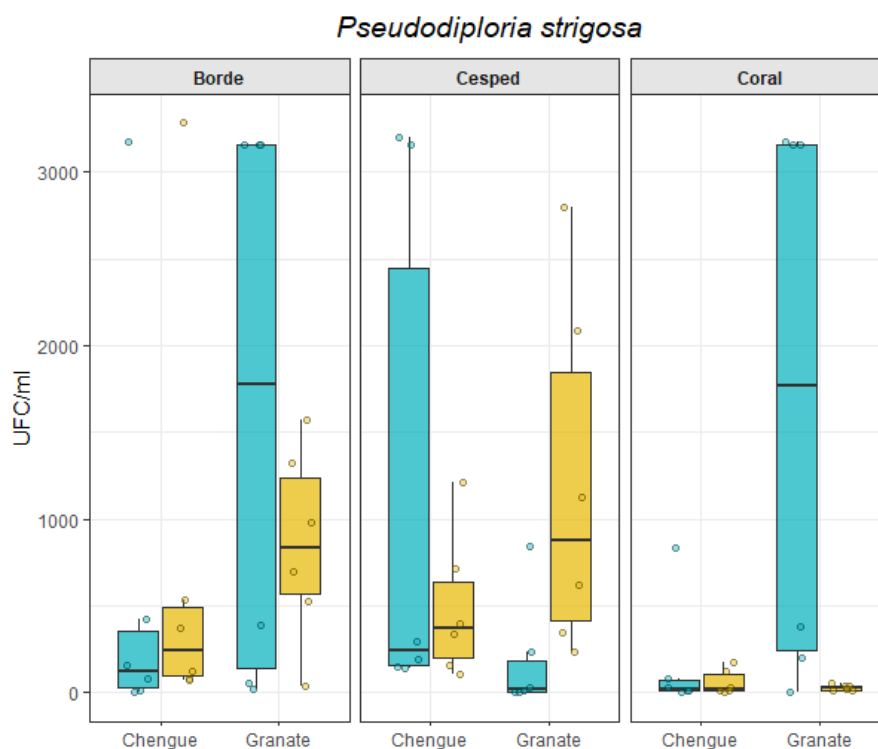


Figura 11. Diagrama de cajas y bigotes de los compartimientos de *P. strigosa* ($n = 72$). Azul (lluviosa) y amarillo (seca). La línea central representa la mediana (Mdn), la caja representa el rango intercuartílico (RIC), los bigotes representan valores máximos y mínimos y los puntos representan valores atípicos.

Adicionalmente, para *P. strigosa* se probaron diferencias entre la interacción **Ep** \times **Ar** sobre los niveles de **Co** (PERMANOVA, $R^2 = 0,09$; $p = 0,02$). La comparación por pares *PAIRWISE* no mostró diferencias significativas para **Borde** y **Coral** ($p > 0,05$); sin embargo, en **Césped** sí se encontraron diferencias en

Granate entre épocas climáticas (*PAIRWISE*, $R^2 = 0,49$; $p = 0,02$) y entre arrecifes y época **lluviosa** (*PAIRWISE*, $R^2 = 0,37$; $p = 0,04$).

Agar ISP2

General

Los resultados (Figura 12) mostraron que el valor máximo en **Borde** se encontró en **lluviosa-Granate** [3253 UFC/mL (Mdn = 316 UFC/mL, RIC = 3155)]. Para el compartimiento **Césped** el máximo se registró en **lluviosa-Chengue** (3211 UFC/mL) con una Mdn = 105 UFC/mL (RIC = 3116). En el compartimiento **Coral** el máximo se presentó en **lluviosa-Granate** [3516 UFC/mL (Mdn = 279 UFC/mL, RIC = 3137)].

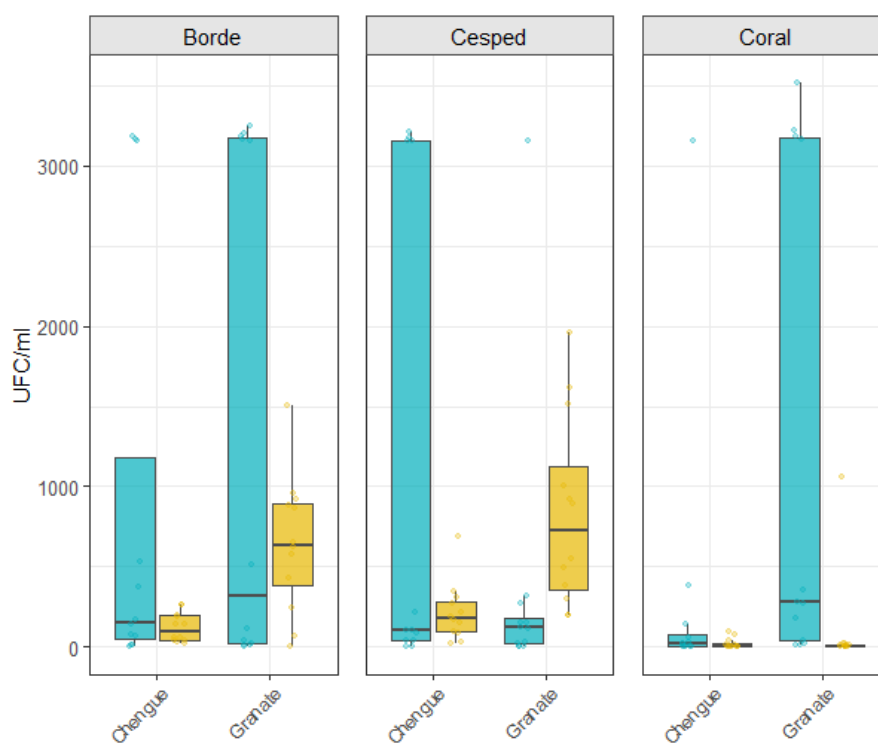


Figura 12. Diagrama de cajas y bigotes de los tres compartimientos en dos épocas climáticas y arrecifes ($n = 144$). Azul (lluviosa) y amarillo (seca). La línea central representa la mediana (Mdn), la caja representa el rango intercuartílico (RIC), los bigotes representan valores máximos y mínimos y los puntos representan valores atípicos.

No se probaron diferencias significativas entre los niveles de **Es** (*M. cavernosa* y *P. strigosa*) y los niveles de **Co** (**Borde**, **Césped** y **Coral**) (PERMANOVA, $R^2 = 0,01$; $p = 0,52$); pero sí entre los niveles de **Co** (PERMANOVA, $R^2 = 0,17$; $p = 0,01 \times 10^{-2}$). La prueba por pares mostró diferencias entre **Borde** y **Coral** (*PAIRWISE*, $R^2 = 0,18$; $p = 0,01 \times 10^{-2}$) y entre **Césped** y **Coral** (*PAIRWISE*, $R^2 = 0,17$; $p = 0,01 \times 10^{-2}$).

Al evaluar individualmente cada compartimiento, la variación entre **Ep** se presentó en **Césped** (PERMANOVA, $R^2 = 0,10$; $p = 0,02$) y **Coral** (PERMANOVA, $R^2 = 0,22$; $p = 0,08 \times 10^{-2}$). **Coral** fue el único que presentó diferencias significativas entre **Ar** (PERMANOVA, $R^2 = 0,08$; $p = 0,03$). Solo **Césped** presentó diferencias en la interacción **Ep** \times **Ar** (PERMANOVA, $R^2 = 0,09$; $p = 0,03$), siendo estas diferencias entre los arrecifes y **seca** (PAIRWISE, $R^2 = 0,42$; $p = 0,04 \times 10^{-2}$) y para **Granate** entre épocas climáticas (PAIRWISE, $R^2 = 0,34$; $p = 0,14 \times 10^{-2}$).

Comparación entre compartimientos en *M. cavernosa* y *P. strigosa*

Los valores máximos se obtuvieron en **Coral** tanto para *M. cavernosa* [3516 UFC/mL (Mdn = 11 UFC/mL, RIC = 76)] como para *P. strigosa* [3221 UFC/mL (Mdn = 16, RIC = 105)]. En el caso de **Borde** para *M. cavernosa* la Mdn fue de 137 UFC/mL (RIC = 829) y en *P. strigosa* [Mdn = 263 UFC/mL (RIC = 668)]. Para el compartimiento **Césped**, la Mdn fue de 205 UFC/mL (RIC = 537) para *M. cavernosa* y Mdn = 195 (RIC = 503) para *P. strigosa* (Anexo B y Figura 13).

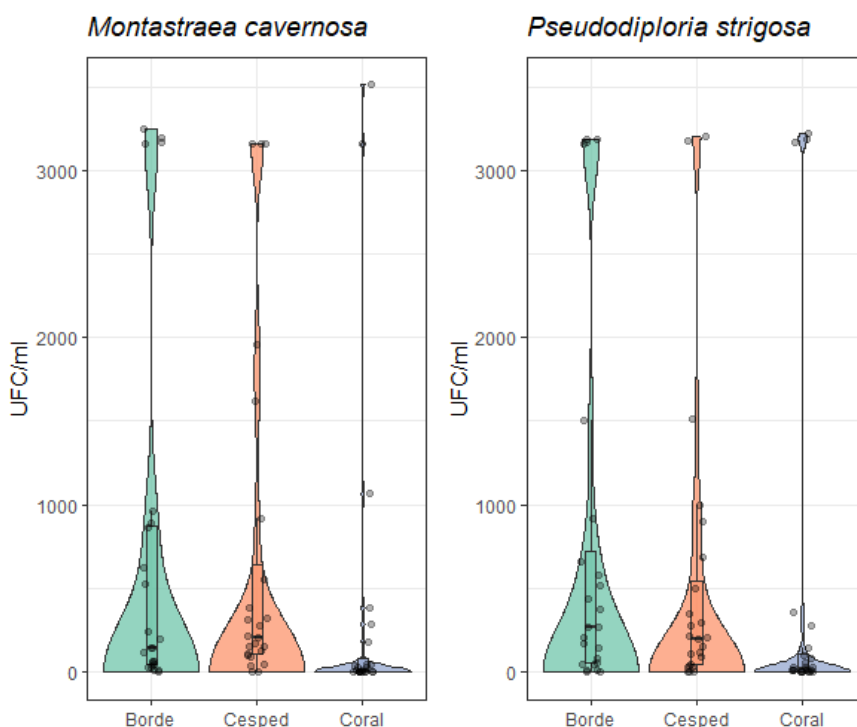


Figura 13. Diagrama tipo violín para *M. cavernosa* ($n = 72$) y *P. strigosa* ($n = 72$). La curva representa la distribución de los datos, la línea central representa la mediana (Mdn), la caja representa el rango intercuartílico (RIC), los bigotes representan valores máximos y mínimos y los puntos representan valores atípicos.

En Agar **ISP2**, la carga microbiana en *M. cavernosa* mostró diferencias significativas entre **Co** ($KW, p = 0,16 \times 10^{-2}$). La prueba de Dunn con corrección mostró diferencias entre **Coral - Borde** ($p = 0,01$) y **Coral** y **Césped** ($p = 0,14 \times 10^{-2}$). El mismo comportamiento se registró en *P. strigosa* ($KW, p = 0,01$), con diferencias entre **Coral - Borde** ($p = 0,01$) y entre **Coral - Césped** ($p = 0,03$).

Efecto de la época climática y el arrecife sobre *M. cavernosa* y *P. strigosa*

En las colonias de *M. cavernosa* (Figura 14), el valor máximo en **Borde** se presentó en **lluviosa-Granate** [3253 UFC/mL (Mdn = 68 UFC/mL, RIC = 2416)]. El **Césped** presentó los máximos en **lluviosa** para los dos niveles de **Ar** 3158 UFC/mL [**Chengue**: Mdn = 95 UFC/mL (RIC = 2342) y **Granate**: Mdn = 211 UFC/mL (RIC = 174)]. Para el compartimiento **Coral** los máximos se presentaron en **lluviosa-Granate** [3516 UFC/mL (Mdn = 111 UFC/mL, RIC = 232)].

El PERMANOVA mostró diferencias significativas ($R^2 = 0,10; p = 0,01$) en los compartimientos de *M. cavernosa* y, la época climática ejerció un efecto significativo en la carga microbiana (UFC/mL) del compartimiento **Coral** ($PAIRWISE, R^2 = 0,29; p = 0,01$). No se encontraron diferencias entre **Ar** y **Co** (PERMANOVA, $R^2 = 0,34 \times 10^{-2}; p = 0,84$). Tampoco se demostró influencia de la interacción (**Ep** \times **Ar** \times **Co**) (PERMANOVA, $R^2 = 0,02; p = 0,38$).

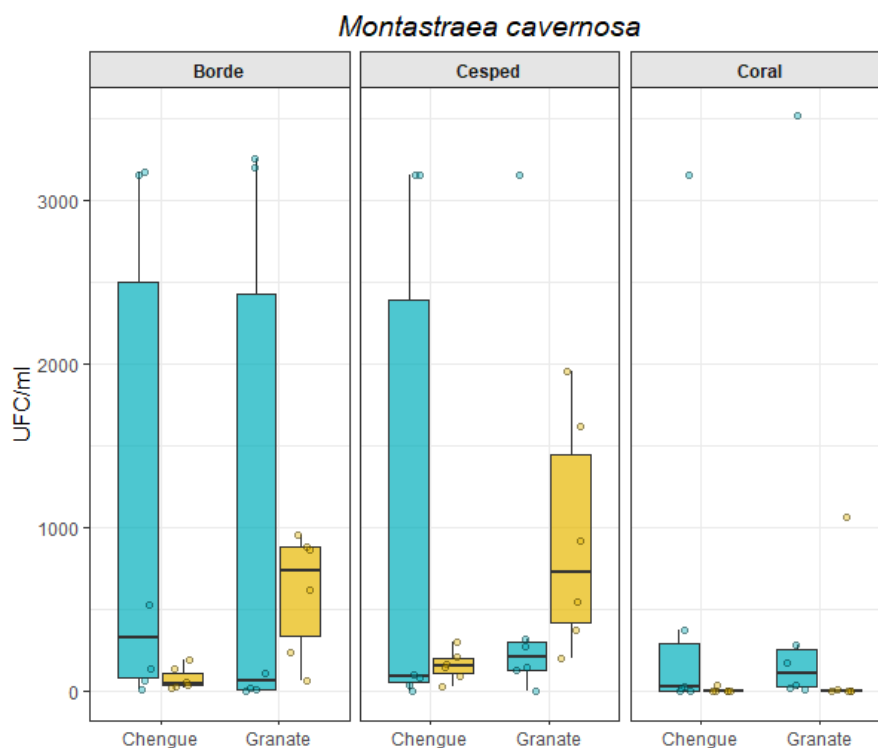


Figura 14. Diagrama de cajas y bigotes de los compartimientos de *M. cavernosa* (n = 72). Azul (lluviosa) y amarillo (seca). La línea central representa la mediana (Mdn), la caja representa el rango intercuartílico (RIC), los bigotes representan valores máximos y mínimos y los puntos representan valores atípicos.

Para *P. strigosa* (Figura 15) el valor máximo en **Borde** se presentó en **lluviosa** en ambos arrecifes 3189 UFC/mL [**Chengue**: Mdn = 121 UFC/mL (RIC = 292) y **Granate**: Mdn 1837 UFC/mL (RIC = 3005)]. En el **Césped** los valores máximos se presentaron en **lluviosa-Chengue** [3211 UFC/mL (Mdn = 158 UFC/mL, RIC = 2379)]. Para el compartimiento **Coral**, los conteos máximos se encontraron en **lluviosa-Granate** [3221 UFC/mL (Mdn = 1763 UFC/mL, RIC = 2889)].

El PERMANOVA mostró diferencias significativas en los compartimientos de *P. strigosa* ($R^2 = 0,10$; $p = 0,01$) y, la **Ep** ejerció un efecto significativo sobre los compartimientos **Césped** (*PAIRWISE*, $R^2 = 0,18$; $p = 0,04$) y **Coral** (*PAIRWISE*, $R^2 = 0,16$; $p = 0,49 \times 10^{-1}$). Los **Ar** no ejercen un efecto en la carga microbiana de los compartimientos (PERMANOVA, $R^2 = 0,04$; $p = 0,12$). El PERMANOVA mostró una repuesta altamente significativa sobre los compartimientos de *P. strigosa* (PERMANOVA, $R^2 = 0,11$; $p = 0,01$) condicionada por el entorno y la temporalidad.

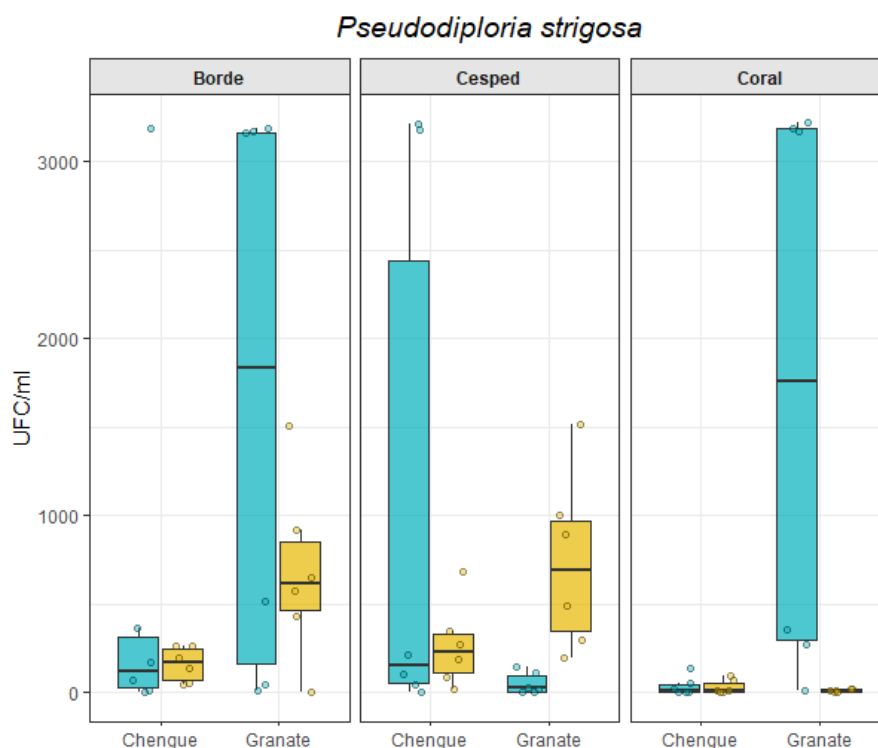


Figura 15. Diagrama de cajas y bigotes de los compartimientos de *P. strigosa* (n = 72). Azul (lluviosa) y amarillo (seca). La línea central representa la mediana (Mdn), la caja representa el rango intercuartílico (RIC), los bigotes representan valores máximos y mínimos y los puntos representan valores atípicos.

La prueba por pares mostró que para el compartimiento **Borde** no hay diferencias significativas ($p > 0,05$) con la interacción **Ep** × **Ar**. En contraste, para **Césped** se probaron diferencias para **Granate** entre **Ep** (*PAIRWISE*, $R^2 = 0,59$; $p = 0,18 \times 10^{-2}$) y una ligera influencia entre **Ar** en **seca** (*PAIRWISE*, $R^2 = 0,31$; $p = 0,05$). Para el compartimiento **Coral** se encontraron diferencias entre épocas para **Granate** (*PAIRWISE*, $R^2 = 0,63$; $p = 0,01$) y entre arrecifes en **lluviosa** (*PAIRWISE*, $R^2 = 0,53$; $p = 0,01$).

Agar Extracto de malta

General

Los resultados (**Figura 16**) mostraron que el valor máximo en **Borde** se encontró en **seca-Granate** [84 UFC/mL (Mdn = 0 UFC/mL, RIC = 3)]. El compartimiento **Césped** presentó un máximo en **lluviosa-Granate** [126 UFC/mL (Mdn = 0 UFC/mL, RIC = 11)]. En **Coral** el máximo se registró en **lluviosa-Granate** [863 UFC/mL y Mdn = 0 UFC/mL (RIC = 0)].

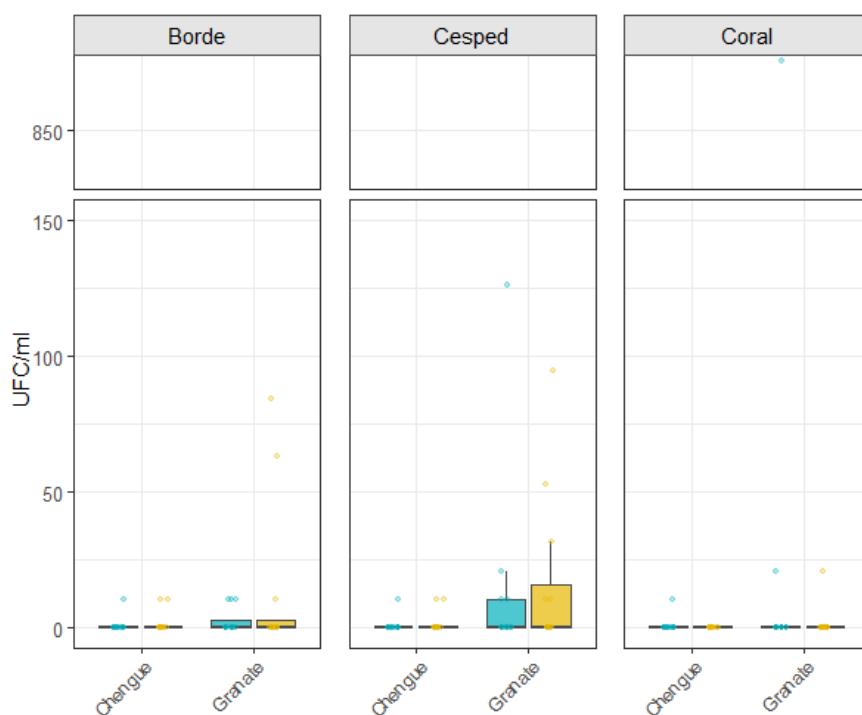


Figura 16. Diagrama de cajas y bigotes de los tres compartimientos en dos épocas climáticas y arrecifes (n = 120). Azul (lluviosa) y amarillo (seca). La línea central representa la mediana (Mdn), la caja representa el rango intercuartílico (RIC), los bigotes representan valores máximos y mínimos y los puntos representan valores atípicos.

Para el agar Extracto de Malta (EM), los resultados del PERMANOVA confirmaron una estabilidad absoluta y una falta de respuesta ante la interacción **Ep × Ar × Co** (PERMANOVA, $R^2 = 0,02 \times 10^{-1}$; $p = 0,87$) además de una estabilidad entre las especies coralinas y los compartimientos (**Es × Co**) (PERMANOVA, $R^2 = 0,01$; $p = 0,36$), lo mismo que entre compartimientos (PERMANOVA, $R^2 = 0,02$; $p = 0,21$).

Comparación entre compartimientos en *M. cavernosa* y *P. strigosa*

A diferencia de los agares AM e ISP2, en el **Extracto de Malta** el crecimiento microbiano fue escaso en ambas especies (Anexo C y Figura 17), registrándose los máximos en **Coral** para *M. cavernosa* (863 UFC/mL) y en **Césped** para *P. strigosa* (32 UFC/mL). La Mdn e RIC fueron cero en todos los compartimientos, excepto en Césped de *P. strigosa* (RIC = 11).

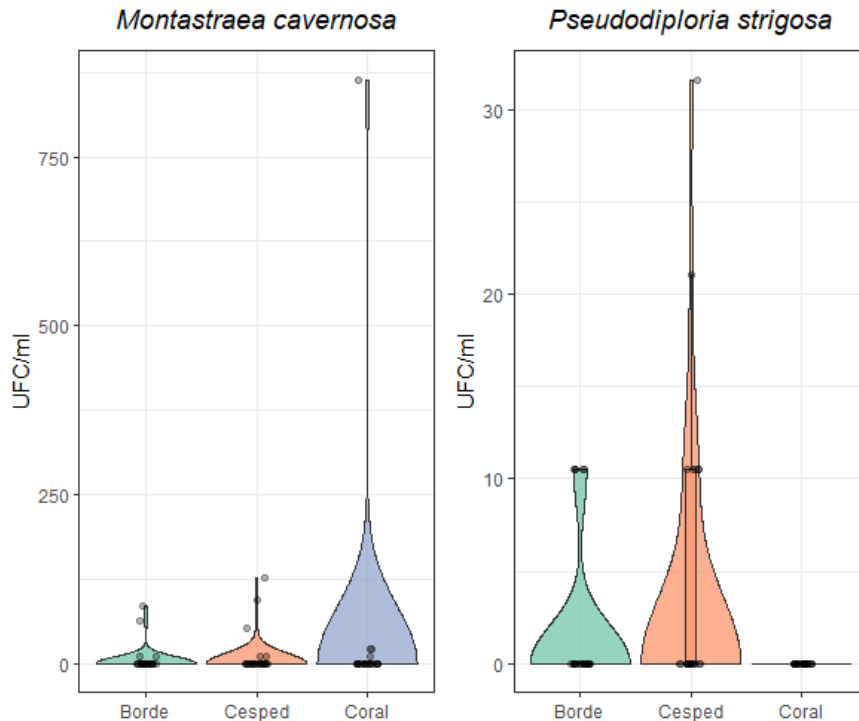


Figura 17. Diagrama tipo violín para *M. cavernosa* (n = 72) y *P. strigosa* (n = 48). La curva representa la distribución de los datos, la línea central representa la mediana (Mdn), los bigotes representan valores máximos y mínimos y los puntos representan valores atípicos.

La carga microbiana de *M. cavernosa* no presentó diferencias significativas entre los compartimientos evaluados ($KW, p = 0,90$). Lo mismo ocurrió con los compartimientos **Borde** y **Césped** de *P. strigosa*, los cuales no presentaron diferencias significativas entre ellos ($WMW, p = 0,44$).

Efecto de la época climática y el arrecife sobre *M. cavernosa* y *P. strigosa*

En colonias de *M. cavernosa*, el valor máximo para **Borde** se registró en **seca-Granate** [84 UFC/mL (Mdn = 0 UFC/mL, RIC = 47)]. Para los compartimiento **Césped** y **Coral** los máximos se registraron en **lluviosa-Granate** [**Césped**: 126 UFC/mL (Mdn = 0 UFC/mL, RIC = 8) y **Coral**: 863 UFC/mL (Mdn = 0 UFC/mL, RIC = 16)] (Figura 18).

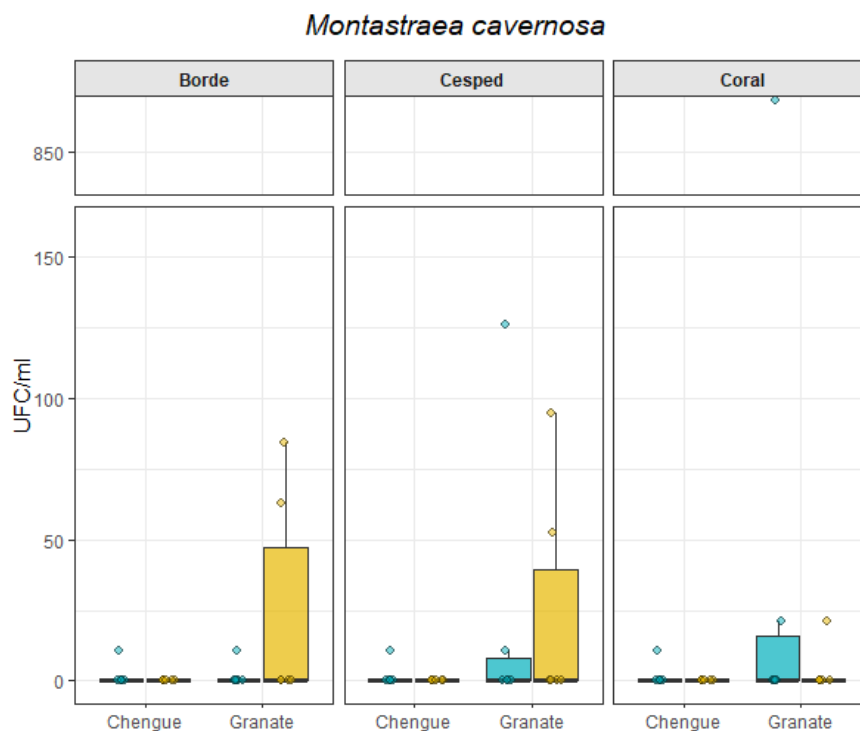


Figura 18. Diagrama de cajas y bigotes de los compartimientos de *M. cavernosa* ($n = 72$). Azul (lluviosa) y amarillo (seca). La línea central representa la mediana (Mdn), los bigotes representan valores máximos y mínimos y los puntos representan valores atípicos.

Para *P. strigosa* el valor máximo en **Borde** se registró en **Granate** en las dos épocas climáticas [**lluviosa**: 11 UFC/mL (Mdn = 0 UFC/mL, RIC = 8) y **seca**: 11 UFC/mL (Mdn = 0 UFC/mL, RIC = 0)] y para **seca-Chengue** [**seca-Chengue**: 11 UFC/mL Mdn = 0 UFC/mL (RIC = 8)]. En **Césped** el valor máximo se registró en **seca-Granate** [32 UFC/mL (Mdn = 5 UFC/mL, RIC = 11)]. El compartimiento **Coral** fue el único que no registró crecimiento de microorganismos (Figura 19).

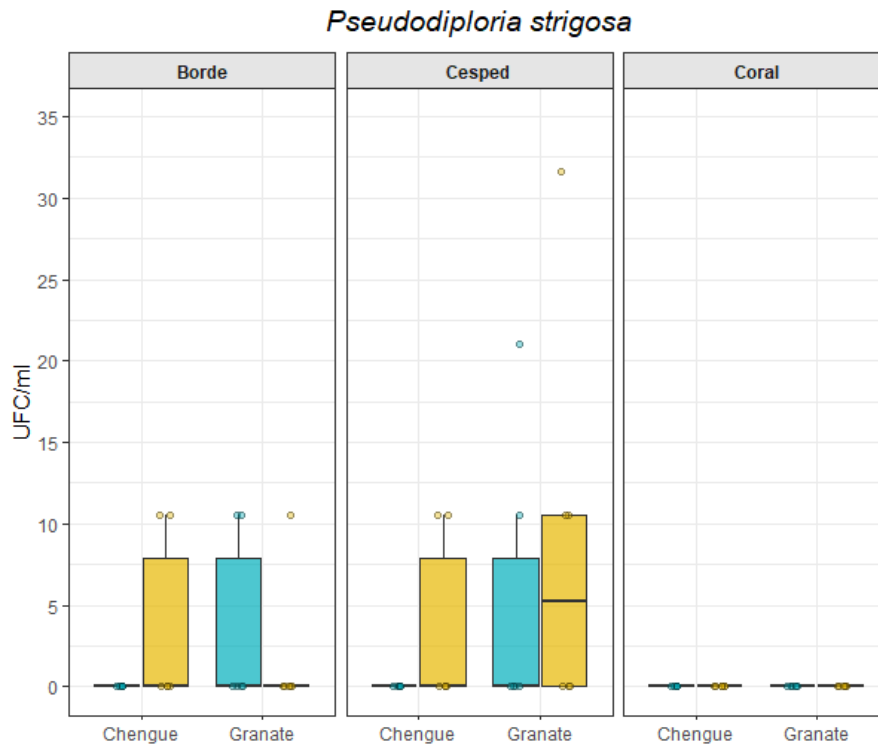


Figura 19. Diagrama de cajas y bigotes de los compartimientos de *P. strigosa* (n = 48). Azul (lluviosa) y amarillo (seca). La línea central representa la mediana (Mdn), los bigotes representan valores máximos y mínimos y los puntos representan valores atípicos.

En contraste con los otros medios (AM e ISP2), el **Extracto de Malta (EM)** no mostró diferencias significativas entre épocas climáticas y los compartimientos de las especies. En el caso de *M. cavernosa* (PERMANOVA, $R^2 = 0,02$; $p = 0,48$) y (PERMANOVA, $R^2 = 0,01$; $p = 0,49$) para *P. strigosa*. Tampoco se presentaron diferencias significativas entre los arrecifes y los compartimientos, siendo (PERMANOVA, $R^2 = 0,03 \times 10^{-1}$; $p = 0,91$) el caso de *M. cavernosa* y (PERMANOVA, $R^2 = 0,01$; $p = 0,37$) para *P. strigosa*. Adicionalmente, el PERMANOVA no mostró diferencias en la interacción de los factores (**Ep** × **Ar** × **Co**), tanto para *M. cavernosa* (PERMANOVA, $R^2 = 0,02$; $p = 0,48$), como para *P. strigosa* (PERMANOVA, $R^2 = 0,01$; $p = 0,49$).

Experimento 2. Cultivo en sustratos selectivos: determinación de actividad proteolítica y amilolítica

Del total de muestras analizadas (n = 144, 48 h de incubación) (Tabla 5), en el sustrato para consumo de proteína el 34,7 % registró actividad. Por su parte, en el sustrato para consumo de almidón el 32,6 % presentó actividad. Al considerar el arrecife, la actividad enzimática fue mayor en **Granate** (proteolítica: 48,6 %;

amilolítica: 43,1 %). Entre especies, la actividad proteolítica fue similar (*M. cavernosa*: 33,3 % y *P. strigosa*: 36,1 %), pero, en la amilolítica fue mayor en *P. strigosa* (37,5 %) que en *M. cavernosa* (27,7 %).

Tabla 5. Actividad enzimática (%) por niveles de factores evaluados y totales.

Factor	Nivel	n (0)	n (1)	% actividad proteolítica	n (0)	n (1)	% actividad amilolítica
Época climática							
	lluviosa	51	21	29.2	51	21	29.2
	seca	43	29	40.3	46	26	36.1
Arrecife							
	Chengue	57	15	20.8	56	16	22.2
	Granate	37	35	48.6	41	31	43.1
Especie							
	<i>M. cavernosa</i>	48	24	33.3	52	20	27.8
	<i>P. strigosa</i>	46	26	36.1	45	27	37.5
Compartimiento							
	Coral	43	5	10.4	44	4	8.3
	Borde	29	19	39.6	30	18	37.5
	Césped	22	26	54.2	23	25	52.1

Al comparar entre compartimientos, el **Césped** registró la mayor actividad enzimática (**proteolítica:** 54,2 %; **amilolítica:** 52,1 %). En el **Borde** la actividad disminuyó (**proteolítica:** 39,6 %; **amilolítica:** 37,5 %). En el compartimiento **Coral** se registró la menor actividad (**proteolítica:** 10,4 %; **amilolítica:** 8,3 %).

Actividad proteolítica

General

El modelo logístico global reveló que la probabilidad de detectar actividad proteolítica está condicionada significativamente por el arrecife y el compartimiento, con independencia de la especie y la época climática (Figura 20).

Granate se identificó como el factor positivo más determinante, aumentando significativamente la probabilidad hasta ~5 veces más de detectar actividad enzimática en comparación con **Chengue** ($p = 0,02 \times 10^{-2}$; OR = 4,79). Por el contrario, **Coral** mostró una relación negativa fuerte y significativa, reduciendo la probabilidad de la actividad en 0,85 respecto al **Borde** ($p = 0,11 \times 10^{-2}$; OR = 0,15) y, la prueba por pares mostró que la actividad enzimática fue ~14 veces más probable en **Césped** que en **Coral** ($p < 0,01 \times 10^{-2}$; OR = 13,76). Factores como la época climática-**seca** ($p = 0,11$; OR = 1,93) y el compartimiento-**Césped** ($p = 0,12$; OR = 2,0) mostraron tendencias hacia una mayor actividad hasta 2 veces más en ambos casos, pero no fueron estadísticamente significativos. No se encontraron diferencias entre las especies evaluadas ($p = 0,68$; OR = 1,18), indicando una respuesta enzimática uniforme entre *P. strigosa* con 1,18 más de probabilidad de actividad que *M. cavernosa* (Figura 20).

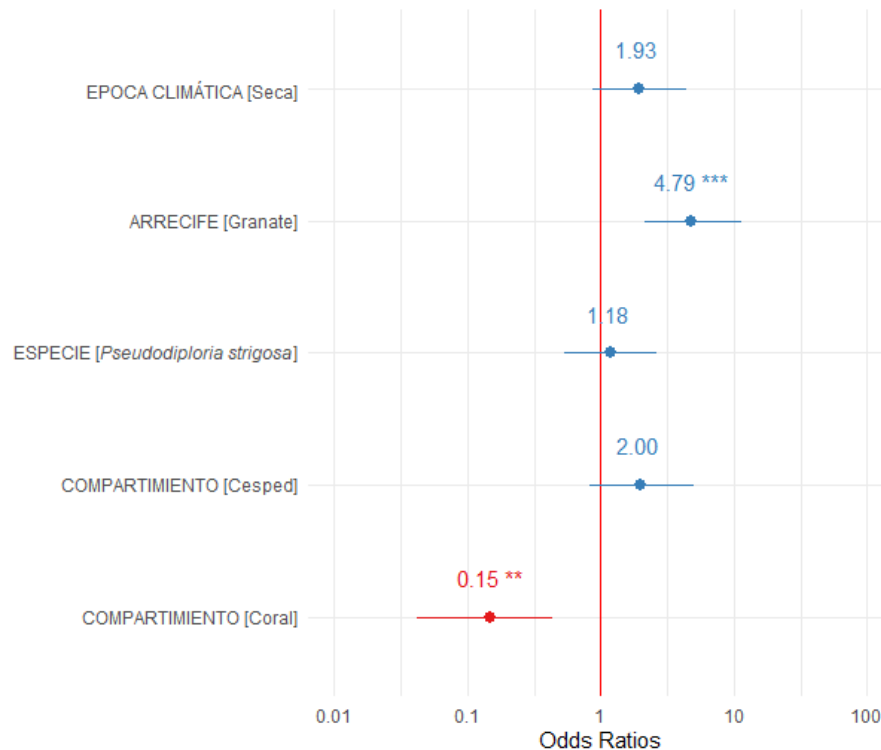


Figura 20. *Odds Ratio* del modelo lineal generalizado de la actividad proteolítica. Los intervalos de confianza del 95 % que no cruzan la línea vertical (OR = 1) indican efectos estadísticamente significativos.

Modelo generalizado para *Montastraea cavernosa* y *Pseudodiploria strigosa*

Al realizar el análisis segregado por especie (Figura 21), se encontró que *M. cavernosa* registró una actividad enzimática más variable respecto al arrecife. En **Granate**, esta especie alcanzó una probabilidad ~ 7 veces más que en **Chengue** ($p = 0,19 \times 10^{-2}$; OR = 7,38), superando a *P. strigosa* con una probabilidad ~ 3 veces mayor ($p = 0,04$; OR = 3,33).

La actividad enzimática en los compartimientos fue similar entre las especies. **Césped** no mostró diferencias con **Borde**, pero sí una ligera probabilidad mayor en *M. cavernosa* ($p = 0,20$; OR = 2,36) frente a **Césped** de *P. strigosa* ($p = 0,36$; OR = 1,77). El compartimiento, **Coral** actúa como una zona de baja presencia enzimática, no obstante, la probabilidad de actividad es ligeramente superior en *P. strigosa* ($p = 0,02$; OR = 0,17) que en *M. cavernosa* ($p = 0,02$; OR = 0,12). La prueba por pares mostró una probabilidad más alta de **Césped** frente a **Coral** ($p = 0,34 \times 10^{-2}$; OR = 20,17) en *M. cavernosa* y en *P. strigosa* ($p = 0,01$; OR = 10,39).

Aunque la **Ep (seca)** no mostró significancia estadística en ninguna especie, particularmente ***P. strigosa*** mostró una tendencia de actividad enzimática mayor ($p = 0,11$; OR = 2,50), en contraste con el observado en ***M. cavernosa*** ($p = 0,55$; OR = 1,44).

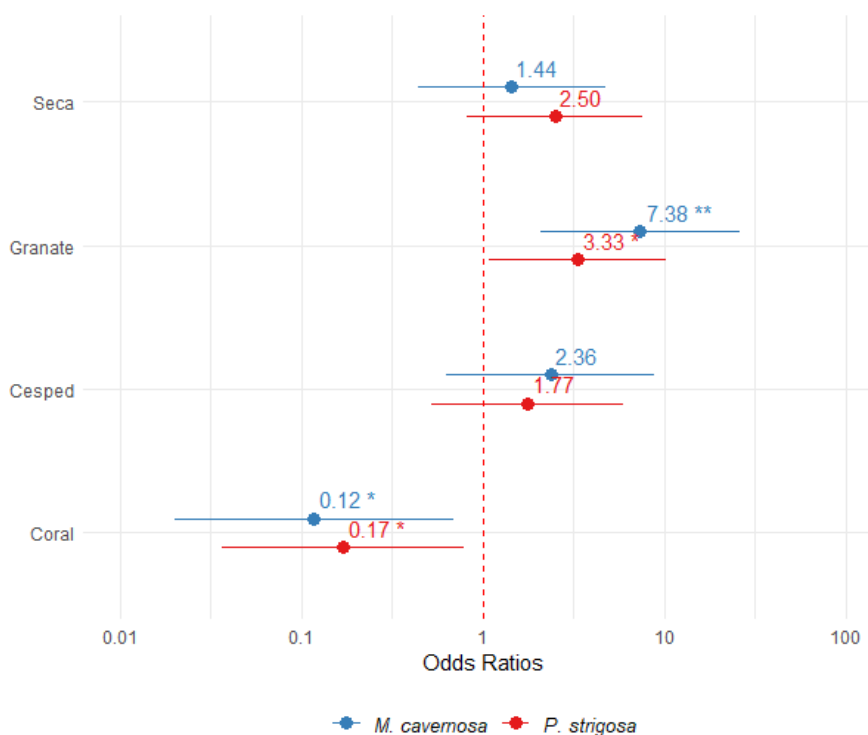


Figura 21. Odds Ratio del modelo lineal generalizado de la actividad proteolítica en *M. cavernosa* (azul) y *P. strigosa* (rojo). Los intervalos de confianza del 95 % que no cruzan la línea vertical (OR = 1) indican efectos estadísticamente significativos.

Análisis por arrecife y especie

En colonias experimentales de ***M. cavernosa***, la actividad proteolítica fue mayor en **Granate** (50,0 %) respecto a **Chengue** (16,7 %). Los resultados en ***P. strigosa*** fueron similares **Granate** (47,2 %) y **Chengue** (25,0 %) (**Anexo D** y **Figura 22**).

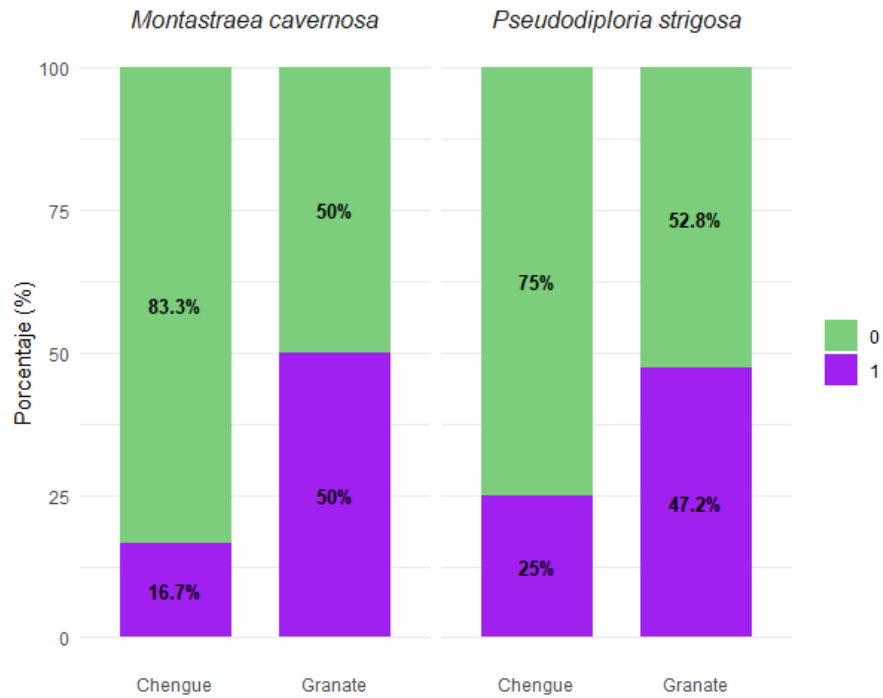


Figura 22. Frecuencia (%) de actividad proteolítica (1: morado) e inactividad (0: verde) por arrecife y especie coralina.

Se confirmaron diferencias significativas entre arrecifes. Para *M. cavernosa*, la actividad enzimática mostró una dependencia significativa respecto al arrecife ($\chi^2 = 7,56$; $p = 0,06 \times 10^{-1}$). En *P. strigosa*, la actividad fue mayor en **Granate**, pero sin significancia estadística ($\chi^2 = 2,95$; $p = 0,09$).

Análisis por compartimento y especie

En colonias de *M. cavernosa*, la actividad proteolítica fue más frecuente en **Césped** (54,2 %) y **Borde** (37,5 %) que en **Coral** (8,3 %). En *P. strigosa* se mantuvo esta tendencia: **Césped** (54,2 %), **Borde** (41,7 %) y **Coral** (12,5 %) (Figura 23).

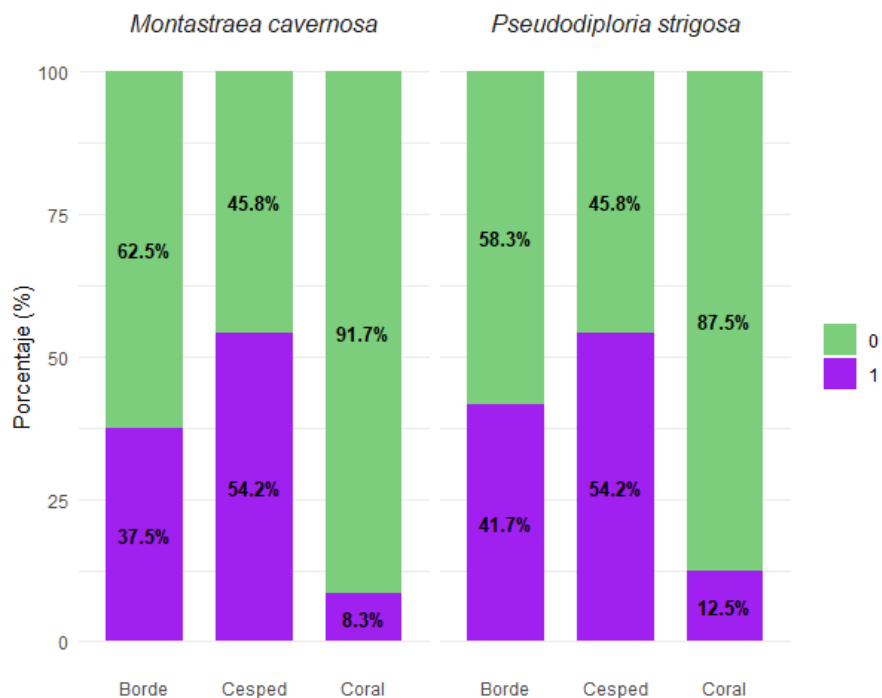


Figura 23. Frecuencia (%) de actividad proteolítica (1: morado) e inactividad (0: verde) por compartimiento y especie coralina.

La Prueba Exacta de Fisher, mostró diferencias altamente significativas en las frecuencias de la actividad proteolítica entre los compartimientos por especie: *M. cavernosa* ($p = 0,22 \times 10^{-2}$) y *P. strigosa* ($p = 0,08 \times 10^{-1}$). La prueba por pares mostró diferencias únicamente entre el compartimiento **Coral** y **Césped** para ambas especies (*M. cavernosa*: $p = 0,04 \times 10^{-1}$) y *P. strigosa* ($p = 0,02$).

Actividad amilolítica

General

Los resultados del experimento de actividad amilolítica mostraron que la probabilidad de detectar amilasas estuvo influenciada significativamente por el arrecife y el compartimiento (Figura 24). **Granate** se consolidó como el factor positivo más determinante, incrementando la probabilidad de presencia de actividad en comparación con **Chengue** ($p = 0,42 \times 10^{-2}$; OR = 3,28). Por su parte, **Coral** exhibió una relación negativa, es decir que, la probabilidad de registrar actividad enzimática disminuye drásticamente respecto al **Borde** ($p = 0,12 \times 10^{-2}$; OR = 0,13). La prueba por pares mostró que **Césped** tuvo una mayor probabilidad de actividad enzimática frente a **Coral**, hasta 14 veces mayor ($p < 0,01 \times 10^{-2}$; OR = 13,76).

Niveles de factores como *P. strigosa* y **Césped** registraron una mayor probabilidad de actividad enzimática sin ser significativa ($p = 0,16$; OR = 1,77) y ($p = 0,13$; OR = 1,94) respectivamente. No se probó diferencias en la probabilidad entre la época **seca** y la época **lluviosa** ($p = 0,31$; OR = 1,50), por lo que no se considera un factor determinante en el modelo.

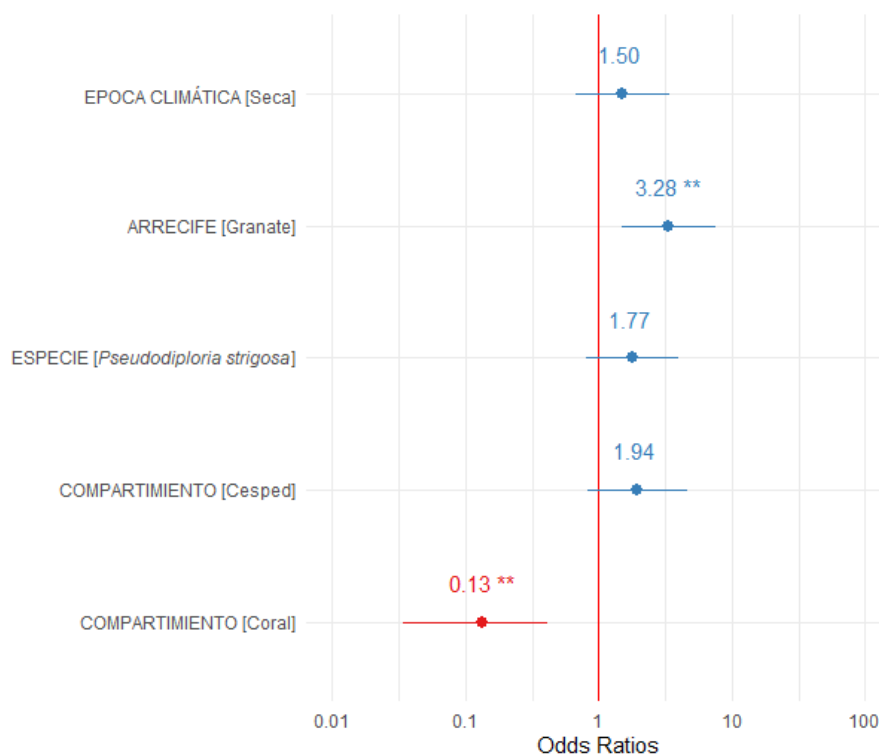


Figura 24. Odds Ratio del modelo lineal generalizado de la actividad amilolítica. Los intervalos de confianza del 95 % que no cruzan la línea vertical (OR = 1) indican efectos estadísticamente significativos.

Modelo generalizado para *Montastraea cavernosa* y *Pseudodiploria strigosa*

El análisis por especie (Figura 25), mostró que, en *M. cavernosa*, el **Césped** se identificó como el predictor positivo más fuerte y significativo, con una alta probabilidad de presentar actividad enzimática respecto a los otros compartimientos [(**Borde**: $p = 0,01$; OR = 6,14) y (**Coral**: $p = 0,35 \times 10^{-2}$; OR = 39,42)]. **Granate** mostró una tendencia positiva con una probabilidad hasta ~3 mayor ($p = 0,07$; OR = 3,24) que **Chengue**, sin ser significativo. Para, *P. strigosa* la probabilidad estuvo condicionada por el arrecife. En **Granate**, esta especie alcanzó una probabilidad de actividad significativa ($p = 0,02$; OR = 3,70) frente a **Chengue**.

Al considerar el comportamiento, **Césped** en *P. strigosa* mostró una relación negativa no significativa con una probabilidad que disminuyó frente a **Borde** ($p = 0,54$; OR = 0,69) y una probabilidad más alta frente a

Coral ($p = 0,03$; OR = 6,91). En contraste, **Coral** mostró una relación negativa respecto a **Borde** para ambas especies [(*M. cavernosa*: $p = 0,11$; OR = 0,16) y (*P. strigosa*: $p = 0,32 \times 10^{-2}$; OR = 0,10)].

La época climática (**seca**) no alcanzó significancia estadística en ninguno de los dos modelos, aunque ambas especies mostraron una tendencia similar hacia una mayor actividad respecto a la época **lluviosa**, con probabilidades ~1,5 mayor para *M. cavernosa* ($p = 0,53$; OR = 1,49) y ~1,6 veces mayor para *P. strigosa* ($p = 0,41$; OR = 1,58).

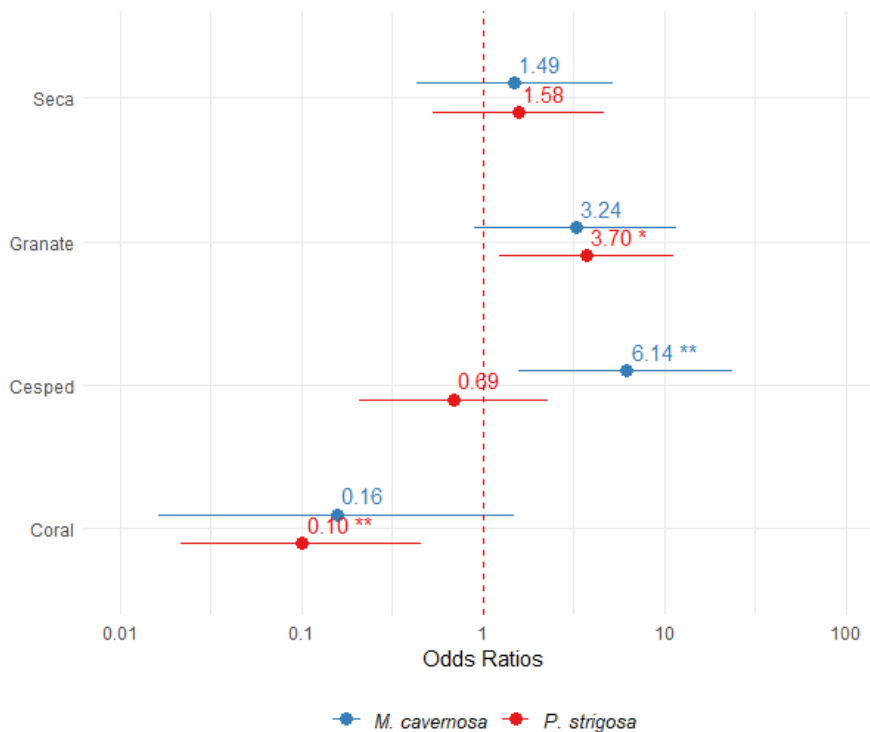


Figura 25. Odds Ratio del modelo lineal generalizado de la actividad amilolítica en *M. cavernosa* (azul) y *P. strigosa* (rojo). Los intervalos de confianza del 95 % que no cruzan la línea vertical (OR = 1) indican efectos estadísticamente significativos.

Análisis por arrecife y especie

En colonias experimentales de *M. cavernosa*, la actividad amilolítica fue mayor en **Granate** (36,1 %) respecto a **Chengue** (19,4 %). Además, *P. strigosa* mostró el mismo patrón en los arrecifes, **Granate** presentó un aumento de la actividad amilolítica (50,0 %) respecto **Chengue** (Anexo E y Figura 26).

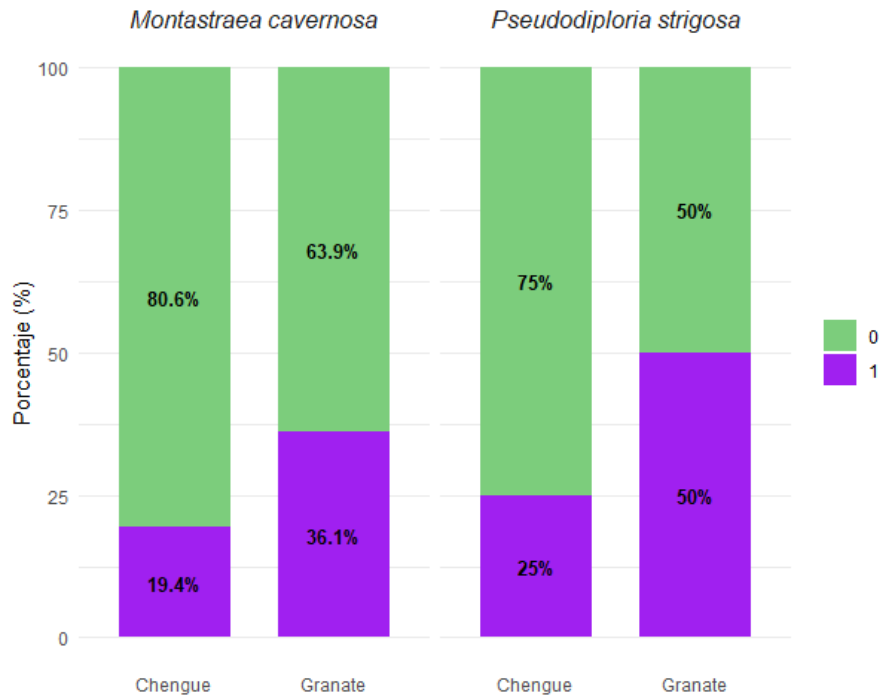


Figura 26. Frecuencia (%) de actividad amilolítica (1: morado) e inactividad (0: verde) por arrecife y especie coralina.

La prueba de Chi-cuadrado no reveló una diferencia significativa entre la actividad amilolítica y el arrecife para las especies: *M. cavernosa* ($\chi^2 = 1,73$; $p = 0,19$) y *P. strigosa* ($\chi^2 = 3,79$; $p = 0,05$).

Análisis por compartimento y especie

En colonias de *M. cavernosa*, la actividad amilolítica fue más frecuente en **Césped** (58,3 %), respecto a **Borde** (20,8 %) y **Coral** (4,2 %). En *P. strigosa*, la frecuencia de actividad presentó un aumento en la actividad de **Borde** (54,2 %) y **Coral** (12,5 %) y, la actividad de **Césped** disminuyó (45,8 %) respecto a *M. cavernosa*.

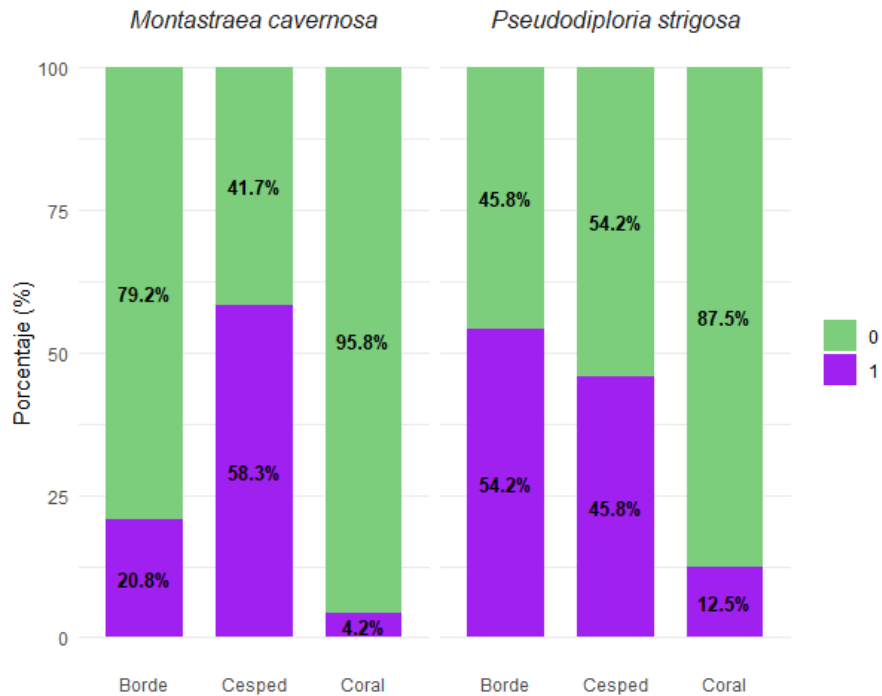


Figura 27. Frecuencia (%) de actividad proteolítica (1: morado) e inactividad (0: verde) por compartimiento y especie coralina.

La prueba Exacta de Fisher reveló diferencias altamente significativas en la presencia de actividad amilolítica entre los compartimientos de las especies. *M. cavernosa* ($p = 0,01 \times 10^{-2}$) y *P. strigosa* ($p = 0,01$). La prueba por pares mostró diferencias significativas entre los compartimientos **Coral** y **Césped** para *M. cavernosa* ($p = 0,03 \times 10^{-2}$) y *P. strigosa* ($p = 0,04$). Además, *P. strigosa* presentó diferencias entre **Borde** y **Coral** ($p = 0,02$) y *M. cavernosa* entre **Borde** y **Césped** ($p = 0,03$).

DISCUSIÓN

Los resultados de microbiología clásica en el estudio de las interacciones coral-césped permitió estimar cargas microbianas diferenciales entre mucus de coral y céspedes algales, y confirmar que la mayor carga se concentra en el borde de interacción. Al respecto, Pozas-Schacre *et al.* (2024) demostraron el efecto de las macroalgas en la estructura de comunidades microbianas asociadas al holobionte durante diferentes etapas de vida de la colonia coralina, así como la adaptación de estas comunidades microbianas a diferentes condiciones a las que se pueden enfrentar a lo largo de su vida (Klaus *et al.*, 2005; Kooperman *et al.*, 2007; Hester *et al.*, 2016).

Asimismo, la frecuencia de actividad enzimática en el estudio de las interacciones coral-césped permitió realizar un acercamiento al consumo de macromoléculas por parte de los microorganismos asociados a los corales y céspedes algales, y confirmar una mayor presencia de actividad enzimática por parte de los microorganismos de los céspedes algales, los cuales pueden ayudar a estos en la competencia contra los corales formadores de arrecifes (Cherifa *et al.*, 2023).

Experimento 1. Obtención de microorganismos cultivables: conteo de unidades formadoras de colonias (UFC)

Los resultados mostraron que el arrecife no influye significativamente sobre la carga microbiana, con independencia del medio de cultivo (**AM**, **ISP2** y **EM**). Por el contrario, la época climática sí influyó en los compartimientos **Césped** y **Coral**, pero no en el **Borde** de *P. strigosa* (**AM** y **ISP2**).

Los resultados mostraron similitudes en la capacidad de carga microbiana entre el **Césped** y el **Borde**, sugiriendo que estos microambientes pueden estar enriquecidos mayormente por exudados algales, que favorecen el crecimiento de diversos consorcios microbianos y posiblemente facilitan la transferencia de microorganismos (Sweet *et al.*, 2013; Greff *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2021). Por el contrario, el **Coral** registró la menor carga microbiana, sugiriendo diferencias en la composición y abundancia de estos consorcios, respecto al **Borde** y al **Césped**. Los resultados presentaron una carga microbiana menor en **Coral** frente a lo reportado en *Porites astreoides*, *P. lobata* y *Oculina patagonica* (Ducklow y Mitchell, 1979; Sharon y Rosenberg, 2008; Garren y Azam, 2010).

Basado en lo anterior, se considera que puede existir una “contaminación” de las comunidades microbianas coralinas ante la presencia de microbiomas de céspedes algales, pudiendo presentar una fuerte influencia negativa al inducir cambios significativos en las comunidades microbianas de los corales, ya que estos pueden adquirir microorganismos asociados a mecanismos de defensa algal, además de fortalecer el “arsenal” microbiano de las algas y aumentando su capacidad alelopática frente a los corales (Greff *et al.*, 2017; Briggs *et al.*, 2021; Fong *et al.*, 2023).

Los resultados del agar **ISP2** mostraron que la carga microbiana de actinobacterias fue similar en **Borde** y **Césped**, contrario a lo visto en **Coral**, sugiriendo así una transferencia principalmente de microorganismos por parte de los céspedes algales hacia el borde de interacción. Esto confirma que los actinomicetos son microorganismos presentes en diversos organismos, y en el caso de los corales pueden protegerlos contra patógenos oportunistas (Zaneveld *et al.*, 2016; Rajivgandhi *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2022), debido a que sus capacidades antimicrobianas pueden ser transferidas horizontalmente a otras bacterias (Ravel *et al.*, 2000; Barlow, 2009; Dhanasekaran y Jiang, 2016).

Los resultados del cultivo de hongos y levaduras mostraron densidad baja y constante en cada compartimiento (**Coral, Borde y Césped**), con independencia de la época climática y el arrecife. Estos microorganismos, al ser heterótrofos facultativos, pueden crecer en ambientes con baja presencia de oxígeno, se encuentran en tejidos orgánicos en descomposición y en diversos organismos marinos. Estos organismos fúngicos son importantes promotores de la liberación y distribución del carbono en el medio, además de esto, cuentan con capacidades antimicrobianas y se reconocen como posibles patógenos de algunos organismos marinos (Miao y Qian, 2005; Gladfelter *et al.*, 2019).

En general, los resultados de la carga microbiana heterótrofa analizados, sugieren que, en **Borde y Césped**, los exudados de las algas son una fuente de carbono importante para el crecimiento y la respiración de microorganismos, algunos potencialmente patógenos como algunos del género *Vibrio* (Kushmaro *et al.*, 1997; Arotsker *et al.*, 2009; Nelson *et al.*, 2013; Garren, 2016; Haas *et al.*, 2016). Se ha encontrado que las algas pueden producir ~5,8 mg de carbono al día, el cual puede ser utilizado por parte de los microorganismos (Wada *et al.*, 2007). El incremento de la biomasa microbiana promueve una utilización de la energía por parte de microorganismos, principalmente heterótrofos, generando áreas de hipoxia en los bordes de interacción coral-algas, el cual poco a poco daña el tejido coralino, y en última instancia puede conducir a la muerte coralina, lo que en parte también puede justificar la presencia de hongos y levaduras (Barrott y Rohwer 2012; Roach *et al.*, 2017; Silveira *et al.*, 2019).

Por el contrario, la carga microbiana del **Coral**, que por lo general fue baja en la mayoría de las colonias evaluadas, señala que el mucus coralino como potencial fuente de carbono, se autorregula, limitando así la proliferación microbiana. Al respecto Wild *et al.* (2004) encontraron que el mucus puede producir ~4,8 litros por metro cuadrado al día de carbono. Por el contrario, en colonias con alta carga microbiana en **Coral**, se presume pérdida de vigor coralino bajo condiciones de estrés.

Experimento 2. Cultivo en sustratos selectivos: determinación de actividad proteolítica y amilolítica

Para este estudio, la actividad enzimática se interpretó como la presencia de consorcios microbianos, con capacidad de consumir un sustrato enriquecido (proteína/almidón) y en ocasiones desarrollarse sobre él (formación UFC), más no la intensidad o velocidad del consumo.

En general, en los dos experimentos, el arrecife influyó en la frecuencia (%) de detección de la actividad enzimática; mientras que la época climática no mostró un efecto significativo. Estos resultados señalan que las condiciones en **Granate** favorecen la actividad enzimática en general para los consorcios microbianos de *M. cavernosa* y *P. strigosa*.

Estas diferencias señalan pistas de los mecanismos metabólicos que los microbiomas presentes usan para adaptarse al entorno (Liang *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2026) y, asumiendo que su éxito (proliferación) tiene el potencial de afectar el resultado de la competencia coral-césped.

El phylum Firmicutes, domina la composición de los microbiomas analizados en muestras de *M. cavernosa* y *P. strigosa* en arrecifes de Granate y Chengue Ruiz-Toquica *et al.* (2024) (datos sin publicar). Este filo tiene un rol importante en la homeostasis y la defensa del coral; ya que estos microorganismos, con actividad proteolítica confirmada, lo protegen de diversos patógenos que pueden deteriorar el tejido coralino (Wijayanti *et al.*, 2018; Su *et al.*, 2020). Asimismo, se sugiere que una alta carga microbiana de Firmicutes puede beneficiar al coral, ya que una alta diversidad de bacterias productoras de proteasas, promueven la regeneración y crecimiento del tejido coralino y posiblemente aumenta la resistencia a determinados patógenos (Su *et al.*, 2020).

Se reconoce que la actividad proteolítica de microorganismos como las del orden Alteromonadales (Chen *et al.*, 2003; Zhao *et al.*, 2012) puede ser de vital importancia para los organismos como los corales, debido a que estas podrían llegar a participar en la obtención del nitrógeno orgánico presente en el medio y brindar una protección frente a diversas enfermedades coralinas (Zhao *et al.*, 2012; Sabdoni *et al.*, 2017; Rosado *et al.*, 2019). No obstante, las proteasas pueden ser clave en la patogenia coralina, contribuyendo a la progresión de enfermedades causadas por microorganismos, como lo son algunas bacterias del género *Vibrio*, que inducen la necrosis del tejido coralino (Arotsker *et al.*, 2009).

Por su parte, la producción de amilasas se ha vinculado con la presencia de bacterias probióticas productoras de α -amilasas biológicamente activas, con potencial para inhibir la producción de biopelículas de patógenos coralinos (Al Harbi *et al.*, 2025; Satheesh y Al Solami, 2026). Además, estos estudios concluyen que la producción de amilasas por microorganismos del holobionte influye en la salud coralina (Shnit-Orland *et al.*, 2012). También se ha identificado esta actividad en microorganismos presentes en céspedes algales (Solanki *et al.*, 2008; Mahmoud y Kalendar, 2016; Zhou *et al.*, 2022; Cherifa *et al.*, 2023). Estas investigaciones sugieren que, estos microorganismos pueden presentar actividad inhibitoria enzimática, siendo de vital importancia para la permanencia de los distintos organismos en el arrecife y blindarlos frente a diversos patógenos potenciales.

CONCLUSIONES

Las técnicas de microbiología clásica, empleadas en este estudio, permitieron estimar valores de referencia para la carga microbiana (UFC/mL) y la presencia de actividad enzimática (proteolítica y amilolítica) en tres compartimientos (Borde, Césped y Coral) de colonias experimentales de *M. cavernosa* y *P. strigosa*, en

dos arrecifes (Granate y Chengue) del Parque Nacional Natural Tayrona, Caribe colombiano, para dos épocas climáticas (lluviosa y seca) en 2024.

En general, la carga microbiana de heterótrofos cultivables, fue mayor durante la época lluviosa y estuvo modulada por el compartimiento, siendo mayor en Borde y Césped y significativamente menor en Coral. El efecto de la especie no fue significativo.

La carga microbiana procedente de los céspedes algales y los bordes de interacción puede sugerir procesos de deterioro coralino, debido a la relación entre los microorganismos heterótrofos y la degradación del tejido coralino.

El arrecife determinó la frecuencia de actividad enzimática, señalando que Granate es un hábitat más propicio para la presencia y potencial proliferación de consorcios microbianos con capacidad para consumir sustratos enriquecidos con proteínas y carbohidratos.

Este estudio permitió reconocer que el potencial de actividad enzimática de los microbiomas evaluados puede ser útil, para entender relaciones entre la ganancia o pérdida de tejido coralino en interacción con céspedes algales.

RECOMENDACIONES

Se recomienda complementar los enfoques de microbiología clásica con herramientas de metagenómica, metatranscriptómica, metabolómica, y bioinformática como información útil para estrategias de restauración y conservación, como por ejemplo para la identificación de potenciales probióticos para los corales.

Desarrollar metodologías que permitan determinar la actividad lipolítica, como información complementaria para comprender las rutas metabólicas de consorcios asociados a interacciones coral-césped.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Colombia (Instituto de Estudios en Ciencias del Mar - CECIMAR), en especial al profesor Sven Zea y a Anita Cárdenas, por abrirme las puertas y darme la oportunidad de colaborar en un proyecto de investigación como parte de mi formación profesional. Al INVEMAR, en especial al laboratorio LABBIM, por el apoyo con todos los equipos, materiales y reactivos, además al equipo de laboratorio que me ayudaron en cada paso con su experiencia para poder desarrollar los experimentos. No siendo menos, expreso mi más profundo agradecimiento a Catalina Gómez, quien me brindó la oportunidad de aprender

de cada proceso que conlleva un trabajo de grado, guiándome con su acompañamiento y conocimiento. A Carlos Daza, cuya experiencia fue fundamental en los aprendizajes extra de este proceso. Con mucho respeto, le agradezco al profesor Adolfo Sanjuan por brindarme el apoyo cuando lo necesité y con su experiencia y sabiduría, guiarme en los momentos donde sentía que no estaba seguro de los procesos que estaba realizando. Por último, al equipo de la Universidad Jorge Tadeo Lozano (Santa Marta) por apoyar a los estudiantes en los diferentes procesos dentro de la Universidad.

A mi familia por siempre apoyarme en cada paso que di, en especial a mi padre y mi madre que siempre creyeron en este proceso, aun cuando yo mismo no lo hacía, y gracias a ellos pude llegar hasta donde estoy. A mi hermana y su esposo, quienes en un punto crucial de mi vida aparecieron para guiarme y encaminarme en este mundo de la Biología Marina. A mis abuelos quienes por años estuvieron a mi lado, enseñándome sobre la vida y cómo afrontar cada problema desde una perspectiva única y dándome ánimos en los momentos más oscuros. A mis sobrinos hermosos, aunque son muy pequeños aún, me dieron todo el valor que me faltaba en muchos momentos con su sonrisa y simplicidad de ver el mundo, recordándome que no importa quién te dé un consejo o punto de vista, vale la pena sentarse y reflexionar sobre ello.

A mis amigos y compañeros de clase que estuvieron a mi lado en muchos momentos donde mi familia no podía. A Elver y Axel por escucharme cada noche hasta que no pudiera más así no entendieran nada de lo que les dijera muchas veces y darme ánimos en cada momento que fue necesario. A Luisa por darme fuerzas cuando más lo necesité y ser una gran amiga que se quedó en mi vida a pesar de todo. A Alejandra por acompañarme en cada momento y ser un pilar cuando fue necesario, aunque estuviera enojada conmigo por mis locuras. A Egea por ser la persona que más aprecio desde que lo conocí por primera vez en Santa Marta, apoyando a todo el mundo y siendo siempre una gran persona. A Angie por ser una gran amiga y ayudarme en momentos donde estaba a punto de desistir.

BIBLIOGRAFÍA

Agresti, A. 2002. Categorical data analysis. Wiley-Interscience A John Wiley y Sons, inc., Publication (Eds.). 2 editions. Florida. 721 p.

Al Harbi, A.M., M.T. Jamal y S. Satheesh. 2025. Antibiofilm activity of amylases Isolated from the bacteria associated with the soft coral *Sarcophyton trocheliophorum*. Journal of King Abdulaziz University: Marine Science, 35(1): DOI: 1-11. 10.64064/1658-4325.1000.

- Anderson M.J., R.N. Gorley y K.R. Clarke. 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E: Plymouth, UK. 214 p.
- Anderson, M.J. 2017. Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA). 1-15. En: Kenett, R.S., N.T. Longford, W.W. Piegorsch y F. Ruggeri. (Eds.). Wiley StatsRef: Statistics Reference Online. John Wiley & Sons, Nueva York. DOI: 10.1002/9781118445112.stat07841.
- Applegate, L.E. y C.W. Erkenbrecher. 1987. Monitoring and control of biological activity in Permasep® seawater RO plants. Elsevier Science Publishers B.V., 65: 331-359. DOI: 10.1016/0011-9164(87)90141-X.
- Arotsker, L., N. Siboni, E. Ben-Dov, E. Kramarsky-Winter, Y. Loya y A. Kushmaro. 2009. *Vibrio* sp. as a potentially important member of the black band disease (BBD) consortium in *Favia* sp. corals. FEMS Microbiology Ecology, 70(3): 515–524. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2009.00770.x.
- Atlas, R.M. 2010. Handbook of microbiological media. 4^a ed. CRC Press, Group, Boca Ratón, Washington D.C. 1957 p.
- Barlow, M. 2009. What antimicrobial resistance has taught us about horizontal gene transfer. Methods Mol Biol, 532: 397–411.
- Barott, K.L. y F.L. Rohwer. 2012. Unseen players shape benthic competition on coral reefs. Trends in Microbiology, 20(12): 621-628. DOI: 10.1016/j.tim.2012.08.004.
- Benavides-Marchena, H., C. Gómez-Cubillos, C.A. Daza-Guerra y S. Zea. 2026. Estructura de la comunidad de céspedes algales en interacción con corales masivos en el atolón Albuquerque, Reserva de la Biosfera Seaflower, Caribe SW Bol. Invest. Mar. Cost., 55(1): 176-197.
- Bourne, D., Y. Iida, S. Uthicke y C. Smith-Keune. 2008. Changes in coral-associated microbial communities during a bleaching event. The ISME Journal, 2(4): 350–363. DOI: 10.1038/ismej.2007.112.
- Briggs, A.A., A.L. Brown y C.W. Osenberg. 2021. Local versus site-level effects of algae on coral microbial communities. Royal Society Open Science, 8(9): 210035. DOI: 10.1098/rsos.210035.

- Cappuccino, J.G. y C. Welsh. 2017. Microbiology: a laboratory manual. Pearson, Boston. 560 p.
- Casey, J.M., T.D. Ainsworth, J.H. Choat y S.R. Connolly. 2014. Farming behaviour of reef fishes increases the prevalence of coral disease associated microbes and black band disease. Proceedings. Biological Sciences, 281(1788): 20141032. DOI: 10.1098/rspb.2014.1032.
- Chasqui, L. (Ed.). 2020. Biodiversidad de los arrecifes rocosos (riscales y morros) del Pacífico Norte Chocoano. Serie Publicaciones Generales N° 116 de INVEMAR. Santa Marta, Colombia. 318 p.
- Chen, X.L., Y.Z. Zhang, P.J. Gao y X.W. Luan. 2003. Two different proteases produced by a deep-sea psychrotrophic bacterial strain, *Pseudoaltermonas* sp. SM9913. Marine Biology, 143: 989–993. DOI: 10.1007/s00227-003-1128-2.
- Cherifa, L., M. Meissa, A. Uzel y B. Allaoueddine. 2023. Thermophilic actinobacteria isolated from Tleghma hot spring: a potential source of thermostable α -amylase. Carpathian J. Food Sci. Technol. 15(4): 168–182. DOI: 10.34302/crpjfst/2023.15.4.13.
- Cortez, J., Y. Ruiz, L. Medina y O. Valbuena. 2013. Efecto de medios de cultivo preparados con agua de mar sobre indicadores sanitarios en aguas marinas de balnearios de Chichiriviche, estado Falcón, Venezuela. Rev. Soc. Ven. Microbiol., 33: 122-128.
- Díaz, J.M., L.M. Barrios, M.H. Cendales, J. Garzón-Ferreira, J. Geister, M. López-Victoria, G.H. Ospina, F. Parra-Velandia, J. Pinzón, B. Vargas-Ángel, F. Zapata y S. Zea. 2000. Áreas coralinas de Colombia. Serie de Publicaciones Especiales No. 5, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR, Santa Marta. 176 p.
- Dobson, A.J. 2001. An introduction to generalized linear models. Chapman y Hall/CRC, Londres. 240 p.
- Ducklow, H.W., y R. Mitchell. 1979. Bacterial populations and adaptations in the mucus layers on living corals¹. Limnology and Oceanography, 24(4): 715-725.
- Dhanasekaran, D., y Y. Jiang. (Eds). 2016. Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications. InTech, Londres. 400 p. DOI: 10.5772/60457.

- Falkowski, P.G., Z. Dubinsky, L. Muscatine y J.W. Porter. 1984. Light and the bioenergetics of a symbiotic coral. *BioScience*, 34(11): 705–709. DOI: 10.2307/1309663.
- FAO [Food and Agriculture Organization of the United Nations]. 2016. *Statistical Aspects of Microbiological Criteria Related to Foods. A Risk Managers Guide. Microbiological Risk Assessment Series*, no 24. Rome. 120p.
- Fong, J., P.P.Y. Tang, L.K. Deignan, J.C.L. Seah, D. McDougald, S.A. Rice y P.A. Todd. 2023. Chemically mediated interactions with macroalgae negatively affect coral health but induce limited changes in coral microbiomes. *Microorganisms*, 11(9): 2261. DOI: 10.3390/microorganisms11092261.
- Franco-Herrera, A. 2005. *Oceanografía de la ensenada de Gaira: El Rodadero, más que un centro turístico en el Caribe colombiano*. Univ. Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 56 p.
- Fricke, A., M. Teichberg, S. Beilfuss y K. Bischof. 2011. Succession patterns in algal turf vegetation on a Caribbean coral reef. *Bot. Mar.*, 54(2): 111–126.
- García, M. y F. Uruburu. 2000. La conservación de cepas microbianas. *Actualidad SEM*, 30: 12-16.
- Garren, M. 2016. Microbial ecology: algae feed a shift on coral reefs. *Nature Microbiology*, 1 (6): 16061. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.61.
- Garren, M y F. Azam. 2010. New method for counting bacteria associated with coral mucus. *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.*, 76 (18): 6128-6133. DOI: 10.1128/AEM.01100-10.
- Gómez-Cubillos, C., C. Gómez-Cubillos, A. Sanjuan-Muñoz y S. Zea. 2019. Interacciones de corales masivos con céspedes algales y otros organismos en arrecifes del Parque Nacional Natural Tayrona. *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 48(2): 143-171. DOI: 10.25268/bimc.invemar.2019.48.2.770.
- Gómez-Cubillos, C., B. Gavio y S. Zea. 2020. Estructura de la comunidad de céspedes algales en interacciones con corales masivos en arrecifes del Parque Nacional Natural Tayrona, Caribe colombiano. *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 49: 45-72. DOI: 10.25268/bimc.invemar.2020.49.SuplEsp.1053.

- Gómez-Villegas, P., J. Vígara, L. Romero, C. Gotor, S. Raposo, B. Gonçalves y R. León. 2021. Biochemical characterization of the amylase activity from the new Haloarchaeal strain *Haloarcula* sp. HS isolated in the Odiel Marshlands. *Biology*, 10(4): 337. DOI: 10.3390/biology10040337.
- Gladfelter, A.S., T.Y. James y A.S. Amend. 2019. Marine fungi. *Current Biology*, 29(6): R191-R195. DOI: 10.1016/j.cub.2019.02.009.
- Granda, S.V., V.H. Gonzalez, y M.I. López. 2016. Principios de la ecología general. Utmach, Machala. 262 p.
- Greff, S., T. Aires, E.A. Serrão, A.H. Engelen, O.P. Thomas y T. Pérez. 2017. The interaction between the proliferating macroalga *Asparagopsis taxiformis* and the coral *Astroides calycularis* induces changes in microbiome and metabolomic fingerprints. *Scientific reports*, 7: 42625. DOI: 10.1038/srep42625.
- Haas, A.F., C.E. Nelson, F. Rohwer, L. Wegley-Kelly, S.D. Quistad, C.A. Carlson, J.J. Leichter, M. Hatay y J.E. Smith. 2013. Influence of coral and algal exudates on microbially mediated reef metabolism. *PeerJ*, 1: e108. DOI: 10.7717/peerj.108.
- Haas, A.F., M.F. Fairoz, L.W. Kelly, C.E. Nelson, E.A. Dinsdale, R.A. Edwards, S. Giles, M. Hatay, N. Hisakawa, B. Knowles, Y.W. Lim, H. Maughan, O. Pantos, T.N. Roach, S.E. Sanchez, C.B. Silveira, S. Sandin, J.E. Smith y F. Rohwer. 2016. Global microbialization of coral reefs. *Nature Microbiology*, 1(6): 16042. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.42.
- Harris, J.L., L.S. Lewis y J.E. Smith. 2015. Quantifying scales of spatial variability in algal turf assemblages on coral reefs. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 532: 41–57.
- Herrera, G.S., M.L.H. Turriago, G.M. Aragón, C.G. Rangel, I.P.C. Bobadilla, M.Y.P. Amaya, W.B. Ortiz, M.M. Díaz, J.M.P. Cáceres y R.F. Ante. 2006. Plan de manejo 2005-2009 Parque Nacional Natural Tayrona. Santa Marta. 296 p.

- Hester, E.R., K.L. Barott, J. Nulton, M.J. Vermeij y F.L. Rohwer. 2016. Stable and sporadic symbiotic communities of coral and algal holobionts. *The ISME Journal*, 10(5): 1157–1169. DOI: 10.1038/ismej.2015.190.
- INVEMAR. 2015. Informe del estado de los ambientes y recursos marinos y costeros en Colombia: Año 2014. Serie de Publicaciones Periódicas No. 3., Santa Marta. 176 p.
- INVEMAR. 2018. Informe del estado de los ambientes y recursos marinos y costeros en Colombia, 2017. Serie de Publicaciones Periódicas No. 3., Santa Marta. 180 p.
- Kester, D.R., I.W. Duedall, D.N. Connors y R.M. Pytkowicz. 1967. Preparation of artificial seawater. *Limnology and Oceanography*, 12: 176-179.
- Klaus, J.S., J. Frias-Lopez, G.T. Bonheyo, J.M. Heikoop y B.W. Fouke. 2005. Bacterial communities inhabiting the healthy tissues of two Caribbean reef corals: interspecific and spatial variation. *Coral Reefs*, 24(1): 129-137. DOI: 10.1007/s00338-004-0447-1.
- Kondo, S. 1976. Punch hole method. A simplified bio-assay technique of antibiotic concentrations. 155-158. En: J. D. Williams y A. M. Geddes (eds). *Chemotherapy - Laboratory Aspects of Infections*. Springer US, Boston, MA. 462 p. DOI: 10.1007/978-1-4684-7653-8_24.
- Kooperman, N., E. Ben-Dov, E. Kramarsky-Winter, Z. Barak y A. Kushmaro. 2007. Coral mucus-associated bacterial communities from natural and aquarium environments. *FEMS Microbiology Letters*, 276(1): 106–113. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2007.00921.x.
- Kushmaro, A., E. Rosenberg y Y. Loya. 1997. Bleaching of the coral *Oculina patagonica* by *Vibrio* AK-1. *Marine Ecology - Progress Series*, 147: 159-165.
- Levene, H. 1960. Robust tests for equality of variances. 278-292. En: Olkin I., S.G. Ghurye, W. Hoeffding, W.G. Madow y H.B. Mann (eds). *Contributions to probability and statistics*. Stanford University Press, Stanford, California. 517 p.

- Li, Z., X. Liao, L. Mo, Q. Liao, K. Lin, X. Bao, J. Sun y X. Zhang. 2026. Composition, diversity and functional potential of bacterial community in four stony coral species from the South China Sea. *Front. Microbiol.* 17:1759094. DOI: 10.3389/fmicb.2026.1759094.
- Liang, J., K. Yu, Y. Wang, X. Huang, W. Huang, Z. Qin, Z. Pan, Q. Yao, W. Wang y Z. Wu. 2017. Distinct bacterial communities associated with massive and branching scleractinian corals and potential linkages to coral susceptibility to thermal or cold stress. *Front. Microbiol.* 8:979. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00979.
- Londoño, J.M., E.M. Jarro, M.C. Díaz, C. Erazo, J. Valbuena, C. Cubillos, C. Arroyo, L.S. Matsuyama, J.A. Echavarría, A.N. Pinzón, M. Jiménez, M.A. Luna, S. Olaya, C.S. Urueña, L.E. Angarita, R.F. Ante, H.F. Gómez, E. Arias, M.C. Pérez y J.C. Gómez. 2020. Plan de manejo de los Parques Nacionales Naturales Sierra Nevada de Santa Marta y Tayrona. 531 p.
- Mahmoud, H.M. y A.A. Kalendar. 2016. Coral-associated actinobacteria: diversity, abundance, and biotechnological potentials. *Front. Microbiol.* 7:204. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00204.
- Marrero, Y., J. Galindo, E. Alvarez, V. Torres, A.I. Aldama, R. Bocourt, A. Elías y D.C. Delgado. 2005. Metodología para aislamiento y caracterización de levaduras provenientes del ecosistema ruminal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 39(1): 47-52.
- Martínez, S. y Acosta, A. 2005. Cambio temporal en la estructura de la comunidad coralina del área de Santa Marta - parque nacional natural Tayrona (Caribe colombiano). *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 34: 161-191.
- Miao, L. y P.Y. Qian. 2005. Antagonistic antimicrobial activity of marine fungi and bacteria isolated from marine biofilm and seawaters of Hong Kong. *Aquat Microb Ecol*, 38(3): 231-238. DOI: 10.3354/ame038231.
- Müller, K. 1979. Interrelaciones entre salinidad y temperatura en la bahía de Santa Marta. *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 13: 219-226.
- Muriithi, J., J.W. Matofari y J.M. Nduko. 2022. Amylolytic microorganisms from diverse tropical environments: Isolation, identification, and amylase production. *Applied Research.*, 1:e202100007. DOI: 10.1002/appl.202100007.

- Nelson, C.E., S.J. Goldberg, L. Wegley Kelly, A.F. Haas, J.E. Smith, F. Rohwer y C.A. Carlson. 2013. Coral and macroalgal exudates vary in neutral sugar composition and differentially enrich reef bacterioplankton lineages. *The ISME Journal*, 7(5): 962–979. DOI: 10.1038/ismej.2012.161.
- NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration). 2016. Disclaimer for external Web links. <https://www.noaa.gov/disclaimer>.
- Oppenheimer, C.H. y C.E. ZoBell. 1952. The growth and viability of sixty-three species of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure. *J. Mar. Res.*, 11(1): 10-18.
- Peters, E.C., J.J. Oprandy y P.P. Yevich. 1983. Possible causal agent of “white band disease” in caribbean acroporid corals. *Journal of Invertebrate Pathology*, 41(3), 394–396. DOI: 10.1016/0022-2011(83)90260-4.
- Pozas-Schacre, C., H. Bischoff, C. Clerissi y M.M. Nugues. 2024. Negative parental and offspring environmental effects of macroalgae on coral recruitment are linked with alterations in the coral larval microbiome. *Royal Society Open Science*, 11(7): 240187. DOI: 10.1098/rsos.240187.
- R Core Team. 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Rain-Franco, A., G.P. de Moraes y S. Beier, S. 2021. Cryopreservation and resuscitation of natural aquatic prokaryotic communities. *Frontiers in Microbiology*, 11: 597653. DOI: 10.3389/FMICB.2020.597653/BIBTEX.
- Rajivgandhi, G.N., G. Ramachandran, M. Maruthupandy, S. Saravanakumar, N. Manoharan y R. Viji. 2018. Antibacterial effect of endophytic actinomycetes from marine algae against multi drug resistant gram negative bacteria. *Examines Mar Biol Oceanogr*, 1(4): 132-139. DOI: 10.31031/EIMBO.2018.01.000522.
- Ramírez, G. 1983. Características físico-químicas de la bahía de Santa Marta (agosto 1980- julio 1981). *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 13: 111-121.

- Ravel, J., E.M. Wellington y R.T. Hill. T. 2000. Interspecific transfer of *Streptomyces* giant linear plasmids in sterile amended soil microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(2): 529–534. DOI: 10.1128/AEM.66.2.529-534.2000.
- Roach, T.N.F., M.L. Abieri, E.E. George, B. Knowles, D.S. Naliboff, C.A. Smurthwaite, L.W. Kelly, A.F. Haas y F.L. Rohwer. 2017. Microbial bioenergetics of coral-algal interactions. *PeerJ*, 5, e3423. DOI: 10.7717/peerj.3423.
- Rodríguez-Mojica, M. 2025. Variación en la densidad de células y en la concentración de pigmentos en dinoflagelados simbióticos de tres corales escleractinios en el Caribe colombiano. Trabajo de grado Biología marina., Universidad Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 38 p.
- Rohwer, F., M. Breitbart, J. Jara, F. Azam y N. Knowlton. 2001. Diversity of bacteria associated with the Caribbean coral *Montastraea franksi*. *Coral Reefs*, 20(1): 85–91. DOI: 10.1007/S003380100138.
- Rosado, P.M., D.C.A. Leite, G.A.S. Duarte, R.M. Chaloub, G. Jospin, U. Nunes da Rocha, J. P Saraiva, F. Dini-Andreote, J.A. Eisen, D.G. Bourne y R.S. Peixoto. 2019. Marine probiotics: increasing coral resistance to bleaching through microbiome manipulation. *The ISME Journal*, 13(4): 921–936. DOI: 10.1038/s41396-018-0323-6.
- Rosenberg, E., O. Koren, L. Reshef, R. Efrony y I. Zilber-Rosenberg. 2007. The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. *Nature Reviews. Microbiology*, 5(5): 355–362. DOI: 10.1038/nrmicro1635.
- Sabdon, A., D.P. Wijayanti y S. Sarjito. 2017. Antipathogenic activity of bacteria associated with acroporid corals against black band disease of Karimunjawa, Indonesia. *Res. J. Microbiol.*, 12: 154-160. DOI: 10.3923/jm.2017.154.160.
- Sandle, T. (2025) Means, ranges and replicates: improving microbial plate counting, *EJPP*, 30: (1).
- Satheesh, S. y L. Al Solami. 2026. Amylase enzyme production in bacteria associated with marine macroalgae: screening, optimization and biofilm inhibitory activity. *Fermentation*, 12(2): 112. DOI: 10.3390/fermentation12020112.

- Shapiro, S.S. y M.B. Wilk. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52: 591-600.
- Sharon, G y E. Rosenberg. 2008. Bacterial growth on coral mucus. *Curr. Microbiol.*, 56: 481-488. DOI: 10.1007/s00284-008-9100-5.
- Shirling, E.B. y D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16: 312-340.
- Silveira, C.B., A. Luque, T.N. Roach, H. Villela, A. Barno, K. Green, B. Reyes, E. Rubio-Portillo, T. Le, S. Mead, M. Hatay, M.J. Vermeij, Y. Takeshita, A. Haas, B. Bailey y F. Rohwer. 2019. Biophysical and physiological processes causing oxygen loss from coral reefs. *eLife*, 8, e49114. DOI: 10.7554/eLife.49114.
- Solanki, R., M. Khanna y R. Lal. 2008. Bioactive compounds from marine actinomycetes. *Ind. J. Microbiol.*, 48: 410–431. DOI: 10.1007/s12088-008-0052-z.
- Shnit-Orland, M., A. Sivan y A. Kushmaro. 2012. Antibacterial activity of *Pseudoalteromonas* in the coral holobiont. *Microbial ecology*, 64(4): 851–859. DOI: 10.1007/s00248-012-0086-y.
- Souter, D., S. Planes, J. Wicquart, M. Logan, D. Obura y F. Staub (eds). 2021. Status of coral reefs of the world: 2020 report. Global Coral Reef Monitoring Network (GCRMN) and International Coral Reef Initiative (ICRI). 200 p. DOI: 10.59387/WOTJ9184.
- Su, H., Z. Xiao, K. Yu, Q. Huang, G. Wang, Y. Wang, J. Liang, W. Huang, X. Huang, F. Wei y B. Chen. 2020. Diversity of cultivable protease-producing bacteria and their extracellular proteases associated to scleractinian corals. *PeerJ*, 8: e9055. DOI: 10.7717/peerj.9055.
- Sweet, M.J., J.C. Bythell y M.M. Nugues. 2013. Algae as reservoirs for coral pathogens. *PloS One*, 8(7): e69717. DOI: 10.1371/journal.pone.0069717.
- Vieira, C., A.H. Engelen, L. Guentas, T. Aires, F. Houlbreque, J. Gaubert, E.A. Serrão, O. De Clerck y C.E. Payri. 2016. Species specificity of bacteria associated to the brown seaweeds *Lobophora*

- (Dictyotales, Phaeophyceae) and their potential for induction of rapid coral bleaching in *Acropora muricata*. *Frontiers in Microbiology*, 7: 316. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00316.
- Wada, S., M.N. Aoki, Y. Tsuchiya, T. Sato, H. Shinagawa y T. Hama. 2007. Quantitative and qualitative analyses of dissolved organic matter released from *Ecklonia cava* Kjellman, in Oura Bay, Shimoda, Izu Peninsula, Japan. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 349: 344–358. DOI: 10.1016/j.jembe.2007.05.024.
- Wicquart, J., L. Mathon, A. Petit, A. Rivera-Sosa y M. McField (eds.). 2025. Status and Trends of Caribbean Coral Reefs: 1970 – 2024. Global Coral Reef Monitoring Network (GCRMN) and International Coral Reef Initiative (ICRI). DOI: 10.59387/BDHF9180.
- Wijayanti, D.P., A. Sabdono, P.A. Widyananto, D. Dirgantara y M. Hidaka. 2018. Antipathogenic activity of bacteria associated with acroporid corals against black band disease of Karimunjawa. *Research Journal of Microbiology*, 19 (4): 1235-1242. DOI: 10.13057/biodiv/d190408.
- Wild, C., M. Huettel, A. Kluefer, S.G. Kremb, M.Y.M. Rasheed y B.B. Jørgensen. 2004. Coral mucus functions as an energy carrier and particle trap in the reef ecosystem. *Nature*, 428:66–70.
- WWF. 2024. Informe Planeta Vivo 2024. Un sistema en peligro. WWF, Gland, Suiza. <https://www.wwf.org.co/?391453/Informe-Planeta-Vivo-2024>.
- Yang, Q., Q. Feng, B-p. Zhang, J-J. Gao, Z. Sheng, Q-p. Xue y X-l. Zhang. 2021. *Marinobacter alexandrii* sp. nov., a novel yellow-pigmented and algae growth-promoting bacterium isolated from marine phycosphere microbiota. *Antonie van Leeuwenhoek* 114: 709–718. DOI: 10.1007/s10482-021-01551-5.
- Zaneveld, J.R., D.E. Burkepile, A.A. Shantz, C.E. Pritchard, R. McMinds, J.P. Payet, R. Welsh, A.M. Correa, NP. Lemoine, S. Rosales, C. Fuchs, J.A. Maynard y R.V. Thurber. 2016. Overfishing and nutrient pollution interact with temperature to disrupt coral reefs down to microbial scales. *Nature Communications*, 7(1): 11833.
- Zar, J.H. 2010. *Biostatistical analysis*. Pearson, Nueva Jersey. 944 p.

Zea, S. 1994. Patterns of coral and sponge abundance in stressed coral reefs at Santa Marta, Colombian Caribbean 257-264. En: Soest, R., T. van Kempen y J. Bracekman. (Eds). Sponges in time and space. Rotterdam: Balkema 952 p.

Zea, S y N. Espada. 2020. Caracterización de variables físicas en La Escollera, una laguna costera artificial en Santa Marta, Caribe colombiano. Bol. Invest. Mar. Cost., 49(2): 25-48. DOI: 10.25268/bimc.invemar.2020.49.2.925.

Zhao, H.L., X.L. Chen, B.B. Xie, M.Y. Zhou, X. Gao, X.Y. Zhang, B.C. Zhou, A.S. Weiss y Y.Z. Zhang. 2012. Elastolytic mechanism of a novel M23 metalloprotease pseudoalterin from deep-sea *Pseudoalteromonas* sp. CF6-2: cleaving not only glycol bonds in the hydrophobic regions but also peptide bonds in the hydrophilic regions involved in cross-linking. The Journal of Biological Chemistry, 287(47): 39710–39720. DOI: 10.1074/jbc.M112.405076.

Zhou T., S. Hu, N. Jia, C. Zhang, H. Huang y S. Liu. 2022. Microbial communities associated with epilithic algal matrix with different morphological characters in Luhuitou fringing reef. Front. Mar. Sci. 9:993305. DOI: 10.3389/fmars.2022.993305.

ANEXOS

Anexo A. Mediana y RIC para *M. cavernosa* y *P. strigosa* en cada compartimiento (AM).

Medio de cultivo	Especie coralina	Compartimiento	Mediana	RIC
AM	<i>M. cavernosa</i>	Borde	311	1082
		Césped	253	655
		Coral	16	187
AM	<i>P. strigosa</i>	Borde	405	1305
		Césped	316	768
		Coral	37	174

Anexo B. Mediana y RIC para *M. cavernosa* y *P. strigosa* en cada compartimiento (ISP2).

Medio de cultivo	Especie coralina	Compartimiento	Mediana	RIC
ISP2	<i>M. cavernosa</i>	Borde	137	829
		Césped	205	537
		Coral	11	76
ISP2	<i>P. strigosa</i>	Borde	263	668
		Césped	195	503

Anexo C. Mediana y RIC para *M. cavernosa* y *P. strigosa* en cada compartimiento (EM).

Medio de cultivo	Especie coralina	Compartimiento	Mediana	RIC
EM	<i>M. cavernosa</i>	Borde	0	0
		Césped	0	0
		Coral	0	0
EM	<i>P. strigosa</i>	Borde	0	0
		Césped	0	10
		Coral	0	0

Anexo D. Actividad proteolítica (%) para cada especie en los diferentes componentes espacio temporales.

Factor	Nivel	n (0)	n (1)	<i>M. cavernosa</i> (%)	n (0)	n (1)	<i>P. strigosa</i> (%)
Época climática							
	lluviosa	25	11	30.6	26	10	27.8
	seca	23	13	36.1	20	16	44.4
Arrecife							
	Chengue	30	6	16.7	27	9	25.0
	Granate	18	18	50.0	19	17	47.2
Compartimiento							
	Coral	22	2	8.3	21	3	12.50
	Borde	15	9	37.5	14	10	41.7
	Césped	11	13	54.2	11	13	54.2

Anexo E. Actividad amilolítica (%) para cada especie en los diferentes componentes espacio temporales.

Factor	Nivel	n (0)	n (1)	<i>M. cavernosa</i> (%)	n (0)	n (1)	<i>P. strigosa</i> (%)
Época climática							
	lluviosa	27	9	25.0	24	12	33.3
	seca	25	11	30.6	21	15	41.7
Arrecife							
	Chengue	29	7	19.4	27	9	25.0
	Granate	23	13	36.1	18	18	50.0
Compartimiento							
	Coral	23	1	4.2	21	3	12.5
	Borde	19	5	20.8	11	13	54.2
	Césped	10	14	58.3	13	11	45.8