

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD MÉRIDA
DEPARTAMENTO DE RECURSOS DEL MAR**

**EXPLORACIÓN DE LAS COMUNIDADES FÚNGICAS EN
CORALES APARENTEMENTE SANOS Y AFECTADOS POR
LA ENFERMEDAD DE PÉRDIDA DE TEJIDO DE CORALES
PÉTREOS (SCTLD) EN EL CARIBE MEXICANO**

Tesis que presenta:

Biol. SABINA ESCOBEDO FORTI

Para obtener el grado de
Maestra en Ciencias
En la Especialidad de
Biología Marina

Director de tesis

Dr. JOSÉ QUINATZIN GARCÍA MALDONADO

Mérida, Yucatán

Junio, 2024

RESUMEN

La importancia de los hongos para los corales ha sido bien documentada, pero sus funciones en el ecosistema aún no están completamente comprendidas. Se sabe que pueden participar en la descomposición de la materia orgánica, en la regulación de microalgas endolíticas, así como en la estimulación de la producción de carbonato de calcio en los corales, y algunos también pueden ser patógenos para ciertas especies de corales. Sin embargo, la diversidad y función de hongos asociados a corales en el Caribe Mexicano ha sido poco explorada. En el presente estudio, se realizó la caracterización de las comunidades fúngicas asociadas a colonias de *S.siderea*, *O. faveolata* y *M. cavernosa* aparentemente sanas y afectadas por la enfermedad de pérdida de tejido de corales pétreos (SCTLD) en el Caribe Mexicano, a través de la secuenciación masiva de la región del espaciador transcrito interno 1 y 2 (ITS1 y ITS2). Se recuperaron 394 lecturas correspondientes a hongos, a partir de las cuales se lograron identificar 23 OTUs. La mayor riqueza de hongos se detectó en *M.cavernosa*, tanto en muestras aparentemente sanas como enfermas. *Aspergillus* y *Malassezia* fueron detectados en los dos tipos de muestras de esta especie, en contraste *Cladosporium* y *Ascotricha* únicamente estuvieron presentes en las muestras enfermas. Las muestras aparentemente sanas de *S.siderea* estuvieron dominadas por *Malassezia*, mientras que *Dirina* fue el hongo dominante en las muestras enfermas de esta especie de coral. *O.faveolata* presentó la menor riqueza de hongos, ya que sólo se detectó *Malassezia*, tanto en muestras aparentemente sanas como enfermas. Este trabajo reporta por primera vez la presencia del hongo liquenizado *Dirina paradoxa* en muestras enfermas de *Siderastrea siderea*, lo cual resalta la necesidad de investigar posibles asociaciones entre algas simbiotas de coral con este hongo, en futuros estudios de ecología de arrecifes coralinos.

ABSTRACT

The importance of fungi for corals has been well documented, but their roles in the ecosystem still need to be fully understood. It is known that they can participate in the decomposition of organic matter, in the regulation of endolithic microalgae, as well as in stimulating the production of calcium carbonate in corals, and they can also be pathogens for certain coral species. However, the diversity and function of fungi associated with corals in the Mexican Caribbean have been poorly explored. In the present study, the characterization of fungal communities associated with apparently healthy colonies of *S. siderea*, *O. faveolata*, and *M. cavernosa*, as well as those affected by Stony Coral Tissue Loss Disease (SCTLD), was conducted in the Mexican Caribbean, through massive sequencing of the Internal Transcribed Spacer 1 and 2 regions (ITS1 and ITS2). A total of 394 reads corresponding to fungi were recovered, from which 23 Operational Taxonomic Units (OTUs) were identified. The highest richness of fungi was detected in *M. cavernosa*, both in apparently healthy and diseased samples. *Aspergillus* and *Malassezia* were detected in both types of samples of this species, but *Cladosporium* and *Ascotricha* were only present in diseased samples. Apparently healthy samples of *S. siderea* were dominated by *Malassezia*, while *Dirina* was the dominant fungus in diseased samples of this coral species. *O. faveolata* presented the lowest richness of fungi, as only *Malassezia* was detected in both apparently healthy and diseased samples. This study reports for the first time the presence of the lichenized fungus *Dirina paradoxa* in diseased samples of *Siderastrea siderea*, highlighting the need to investigate possible associations between coral symbiotic algae with this fungus in future studies of coral reef ecology.

Contenido

Lista de tablas.....	6
Lista de figuras.....	7
Agradecimientos	8
INTRODUCCIÓN	9
MARCO TEÓRICO.....	10
Hongos Marinos.....	10
Morfología celular y adaptaciones de hongos marinos.....	12
Modos de vida tróficos en hongos	16
Nichos ecológicos de hongos en arrecifes	18
Interacciones de las comunidades fúngicas en el holobionte.....	21
Potencial biotecnológico de los hongos de corales	27
Enfermedad de pérdida de tejido de coral pétreo (SCTLD)	29
<i>Siderastrea siderea</i>	31
<i>Montastrea cavernosa</i>	32
<i>Orbicella faveolata</i>	32
ANTECEDENTES.....	33
JUSTIFICACIÓN	34
HIPOTÉISIS.....	34
OBJETIVOS	34
Objetivo general.....	34
Objetivos específicos	34
MATERIALES Y MÉTODOS	35
Recolecta de muestras.....	35
Extracción de ADN	35
Preparación de bibliotecas.....	35
Bioinformática.....	38
RESULTADOS	42
Secuenciación.....	42
Listado taxonómico.....	42
Número de lecturas por muestra	44
Análisis de Gremios	50

DISCUSIÓN	53
Comparación de las especies de hongos en corales reportadas en el Caribe y en Florida	54
Composición de las comunidades fúngicas por especie de coral.....	55
<i>M. cavernosa</i>	55
<i>S. siderea</i>	56
<i>O. faveolata</i>	56
Grupos de hongos.....	57
Gremios funcionales.....	69
CONCLUSIONES	73
ANEXOS	74
REFERENCIAS.....	75

[Lista de tablas](#)

Tabla 1. Interacciones posibles entre hongos y otros microorganismos. Modificado de Boddy, L. 2016b.

Tabla 2. Lista de muestras con la especie de coral y estado de salud asociado.

Tabla 3. Gremios funcionales reconocidos por FUNGuild.

[Lista de figuras](#)

Figura 1. Tres tipos de morfología fúngica en ambientes marinos (de izquierda a derecha: *Saccharomyces* sp., levadura; *Aspergillus* sp., hifa; zoospora de Chytridiomycota) y algunas adaptaciones de los hongos marinos. Elaboración propia en Biorender.

Figura 2. Nichos ecológicos de hongos en arrecifes de coral basada en Roik *et al.*, 2023. Elaboración propia en Biorender.

Figura 3. Algunos de los microorganismos con los que los hongos tienen interacciones. Elaboración propia en Biorender.

Figura 4. Ejemplos de análisis posibles para usos potenciales en la industria. Se muestran tres ejemplos de industrias donde se pueden aplicar bioproductos de hongos de coral. Elaboración propia en Biorender.

Figura 5. Flujo de trabajo de PIPITS indicando las paqueterías usadas en cada etapa. Modificado de Gweon *et al.*, 2015.

Figura 6. Número de lecturas por género en muestras de *M.cavernosa* aparentemente sanas y afectadas por la SCTLD.

Figura 7. Número de lecturas por género en muestras de *M.cavernosa* aparentemente sanas y afectadas por la SCTLD.

Figura 8. Número de lecturas asociadas a las muestras de *O. faveolata* según el género

Figura 9. Número de lecturas asociadas a las muestras de las 3 especies de coral aparentemente sanas.

Figura 10. Número de lecturas asociadas a las muestras de las 3 especies afectadas por la SCTLD según el género de hongos.

Figura 11. Número de lecturas asociadas a las muestras de las 3 especies con respecto a las distintas OTUs de *Malassezia*.

Figura 12. Gremios de hongos en colonias aparentemente sanas y afectadas por la SCTLD de *S.siderea*, *M.cavernosa* y *O.faveolata*.

Agradecimientos

Agradezco al CONAHCYT por el apoyo brindado a través del proyecto "Respondiendo a una nueva crisis que enfrentan los arrecifes de coral en el Caribe mexicano: acciones para mitigar una enfermedad emergente de corales y la degradación de arrecifes" clave 425888, de la Convocatoria Ciencia de Frontera 2019, según el oficio DCF/C1000/2359/202.

Expreso mi profundo agradecimiento al Cinvestav por darme la oportunidad de formarme como científica. Así mismo quisiera agradecer particularmente a mi asesor, el Dr. José Quinatzin García Maldonado por su invaluable orientación, constante motivación y por haberme guiado e impulsado a pensar de manera crítica en cada paso del proceso de investigación.

Agradezco también a mi comité sinodal, la Dra. Leopoldina Macedo Aguirre y el Dr. Ramón Batista García por su generoso tiempo, valiosos consejos y aportes que enriquecieron mi trabajo.

Mi gratitud se extiende al equipo del Dr. David Paz del CIBNOR por facilitarme el acceso a las muestras necesarias para llevar a cabo mi investigación.

También deseo expresar mi gratitud a la M. en C. Abril Gamboa por su invaluable apoyo en el laboratorio. Así mismo quisiera agradecer a todos mis profesores de Maestría que me formaron e inculcaron interés por sus disciplinas.

También quisiera agradecer al Dr. Iván Velázquez por su amable disposición y buenos consejos así como Dr. Víctor Vidal por su invaluable apoyo.

Agradezco también al personal administrativo, en especial a Marisa Baqueiro y Edgar Ramírez, por su colaboración y disposición.

No puedo dejar de mencionar a mis compañeros de generación, Miriam, Oswaldo, Wendy y Ericka, con quienes compartimos risas, apoyo y buenos momentos durante este trayecto académico. Mi agradecimiento se dirige también a mis compañeros de laboratorio, cuya amistad y consejos fueron muy valiosos. Asimismo, agradezco a mi equipo de fútbol, los Patolokos, por brindarme energía y motivación con cada juego y a los compañeros del CECIM quienes me infundieron ganas de aportar a la comunidad estudiantil.

A mi mamá, Silvana, le debo un reconocimiento especial por su constante apoyo, por motivarme a estudiar y por ser una gran inspiración para mí.

Quisiera también agradecer a Alex por compartir conmigo estos años de estudio y hacer que sean muy divertidos y enriquecedores.

Finalmente, agradezco a Oreo, Zulu y Odin porque sus ronroneos me relajaron en los momentos de estrés y a Oxum por sacarme a pasear y tomar el fresco.

INTRODUCCIÓN

Los arrecifes de coral del Caribe, además de ser estructuras fascinantes por sí mismas, son también sitios de crianza para muchas especies (Nagelkerken *et al.*, 2000) y son focos importantes de biodiversidad marina. Poseen un alto valor turístico y económico, ya que generan varios servicios eco-sistémicos. Su estructura, por ejemplo, protege las costas en caso de huracanes (Adams, 2001), aunado al hecho de que es un área de cría de muchos animales marinos (Nagelkerken *et al.*, 2000). También son sitios de turismo y recreación, sin contar con el hecho notable que los arrecifes de coral caribeños son estructuras milenarias que existen desde el Plioceno (McNeill *et al.*, 1997).

A pesar de su enorme importancia, en la última década, los arrecifes de coral del Caribe mexicano han sido duramente afectados por los cambios climáticos, las enfermedades y la presión antropogénica (Rioja-Nieto *et al.*, 2019). Dentro de las enfermedades más letales que se han registrado en esta región se encuentra la enfermedad de pérdida de tejido de los corales duros (Alvarez-Filip *et al.*, 2019), a la cual nos referiremos en adelante por sus siglas en inglés SCTLD (Stony Coral Tissue Loss Disease).

Dado su condición de holobiontes, la salud de los corales está influenciada por una red compleja de interacciones biológicas entre su microbioma. En los últimos años, ha habido un fuerte enfoque en la investigación de las comunidades bacterianas relacionadas con los corales, sin embargo, hay una falta de estudios en cuanto a las comunidades de micro-eucariotas (Ainsworth *et al.*, 2017) y de hongos en particular (Roik *et al.*, 2023).

Este estudio se enmarca en la investigación de ciencia básica, representando uno de los primeros esfuerzos en México para explorar las comunidades fúngicas asociadas a corales en el contexto de la SCTLD. Al abordar las interacciones entre los hongos y los corales en ese enfoque, se pretende contribuir a la comprensión global de la microbiología de corales e identificar posibles cambios en las comunidades fúngicas.

Espécificamente se estudiaron los cambios en las comunidades fúngicas de los corales *M.cavernosa*, *S.siderea* y *O.faveolata* en ejemplares aparentemente sanos y afectados por la SCTLD en el Caribe mexicano.

MARCO TEÓRICO

Hongos Marinos

Los hongos son organismos eucariotas pertenecientes al supergrupo Opisthokonta, ampliamente distribuidos tanto en ecosistemas terrestres como en ecosistemas acuáticos. El debate continúa sin resolverse en cuanto a si los hongos primigenios evolucionaron en entornos acuáticos continentales o marinos, no obstante, su origen en medios acuáticos ha sido concluyentemente establecido (Grossart *et al.*, 2019). En cuanto a su clasificación, debido a que no son un grupo monofilético, se usa la clasificación de “Reino”. Esta nomenclatura está actualmente regulada por el Código Internacional de Nomenclatura para algas, hongos y plantas y es enmendada por la Sesión de Nomenclatura del Congreso Micológico Internacional (IMC) bajo los auspicios de la Asociación Micológica Internacional (Fang Wang *et al.*, 2022).

Los hongos se caracterizan por la ausencia de fagotrofia, la cual perdieron en su evolución temprana (James *et al.*, 2006) y por la presencia de una pared celular compuesta de quitina (Naranjo-Ortiz y Gabaldón, 2019). Aunque el número exacto de especies fúngicas existentes permanece desconocido, las estimaciones varían significativamente, oscilando entre 1.5 y más de 5 millones de especies. Hasta el año 2017, los registros taxonómicos indicaban la descripción de aproximadamente 120,000 especies de hongos (Hawksworth y Lücking, 2017), lo que representa menos del 10% del total estimado de especies fúngicas. En contraste, se ha alcanzado un nivel de identificación cercano al 98% de las especies estimadas de plantas vasculares, que ascienden a un poco más de 400,000 especies (Ulloa Ulloa *et al.*, 2017).

En términos de investigación y esfuerzo científico, existe una marcada disparidad en cuanto al estudio de los hongos y otros grupos de organismos (Roth *et al.*, 2023). Sin embargo, en ecosistemas terrestres, donde han sido más exhaustivamente

investigados, los hongos desempeñan un papel fundamental, tanto por sus asociaciones con plantas que pueden resultar muy beneficiosas, cómo por su capacidad de descomponer materia orgánica e incluso compuestos recalcitrantes (Blackwell y Vega, 2018). Tal es su importancia en los sistemas terrestres que han sido reconocidos cómo un elemento esencial en la colonización terrestre por parte de las plantas. Esto se debe a las asociaciones simbióticas establecidas entre los hongos, cianobacterias y algas, las cuales han permitido maximizar el acceso a los nutrientes disponibles (Boddy, 2016a). A pesar de su papel relevante en biosfera terrestre, se sabe mucho menos sobre la función y el potencial de los hongos marinos (Gladfelter *et al.*, 2019).

Los hongos marinos han sido detectados en una amplia gama de hábitats marinos, desde la superficie del océano hasta profundidades de kilómetros bajo los sedimentos oceánicos (Gladfelter *et al.*, 2019). Además, se ha documentado su presencia en el hielo del Ártico (Gunde-Cimerman *et al.*, 2003), en ventilas hidrotermales (Burgaud *et al.*, 2009) y en sedimentos a 1200 metros de profundidad de la superficie del mar (Ganesh Kumar *et al.*, 2019).

Se ha planteado que los hongos marinos podrían estar desempeñando un papel importante en los ciclos de población del fitoplancton, en particular a través del fenómeno conocido como "mycoloop" el cual se debe a la capacidad de los hongos de degradar compuestos participando así en el ciclo de nutrientes (Ogwugwa *et al.*, 2022).

Asimismo, se ha postulado su contribución a la bomba biológica de carbono y a la química de los sedimentos marinos (Amend *et al.*, 2019). A pesar de su aparente ubicuidad y su evidente relevancia en los sistemas terrestres, existe un conocimiento limitado acerca de la diversidad y función de los hongos en los ecosistemas marinos en general y arrecifales en particular (Roik *et al.*, 2022).

A lo largo del tiempo, ha habido diversas definiciones propuestas para los hongos marinos. Kohlmeyer y Kohlmeyer (1979) fueron los primeros en intentar definirlos,

proponiendo una distinción entre hongos marinos obligados, que esporulan y crecen exclusivamente en ambientes marinos o estuarinos, y hongos marinos facultativos, que originalmente pueden provenir de ambientes de agua dulce o terrestre, pero tienen la capacidad de crecer en ambientes marinos. Posteriormente, en 2016, Pang y colaboradores revisaron el uso de los términos "hongos marinos" y "hongos de origen marino" y propusieron una definición más amplia. Ellos definieron los hongos marinos como aquellos capaces de: (i) crecer y/o esporular en ambientes marinos sobre sustratos; (ii) establecer relaciones simbióticas con otros organismos marinos; o (iii) adaptarse, evolucionar o ser metabólicamente activos en ambientes marinos.

En esta investigación se adoptó la definición de hongos marinos propuesta por Pang *et al.* (2016), utilizando el término "hongos marinos" para hacer referencia a cualquier hongo registrado encontrado en ambientes marinos. Hasta la fecha, solo un porcentaje relativamente pequeño de las especies de hongos descritas están asociadas exclusivamente con ambientes marinos, con aproximadamente 1,100 especies caracterizadas exclusivamente en el ambiente marino (Amend *et al.*, 2019). Sin embargo, es importante destacar que muchas especies de hongos marinos tienen un origen terrestre, ya que varios linajes de hongos han realizado transiciones repetidas de ambientes marinos a terrestres a lo largo de la evolución (Amend *et al.*, 2012). En este sentido, varios artículos relacionan las tormentas de arena con subsecuentes *blooms* o proliferación de hifas fúngicas en arrecifes. Esto sugiere que eventos como las tormentas de arena a miles de km de los arrecifes podrían potencialmente influir en la dinámica de los ecosistemas marinos (Hallegraeff *et al.*, 2014 y Hayadeh *et al.*, 2018).

Morfología celular y adaptaciones de hongos marinos

Los hongos son organismos eucariotas y por lo tanto, comparten muchas características de su biología celular con animales y plantas. Sin embargo, varias características los diferencian de las plantas, la principal es que no son autotrófos y que poseen una pared celular compuesta de quitina (Feofilova *et al.*, 2010). Otra peculiaridad de este grupo es que algunos hongos tienen un núcleo por célula,

mientras que otros, específicamente aquellos pertenecientes al supergrupo Dikarya, que incluye las divisiones Basidiomycota, Ascomycota y Entorrhizomycota, tienen dos núcleos por célula (Boddy, 2016a).

Entre los orgánulos únicos de las células fúngicas se encuentran el Spitzenkörper, que se localiza en las puntas de las hifas y desempeña un papel fundamental en la dirección del crecimiento del hongo, y el cuerpo de Woronin presente en el grupo Ascomycota, que participa en la respuesta de los hongos ante daños en la membrana celular (Watkinson, 2016). Los hongos tienen también un secretoma bien desarrollado que les permite extraer nutrientes, incluso de compuestos altamente polimerizados y a menudo muy hidrofóbicos, como la celulosa o lignina, lo cual es muy difícil para otros microorganismos (Money, 2016).

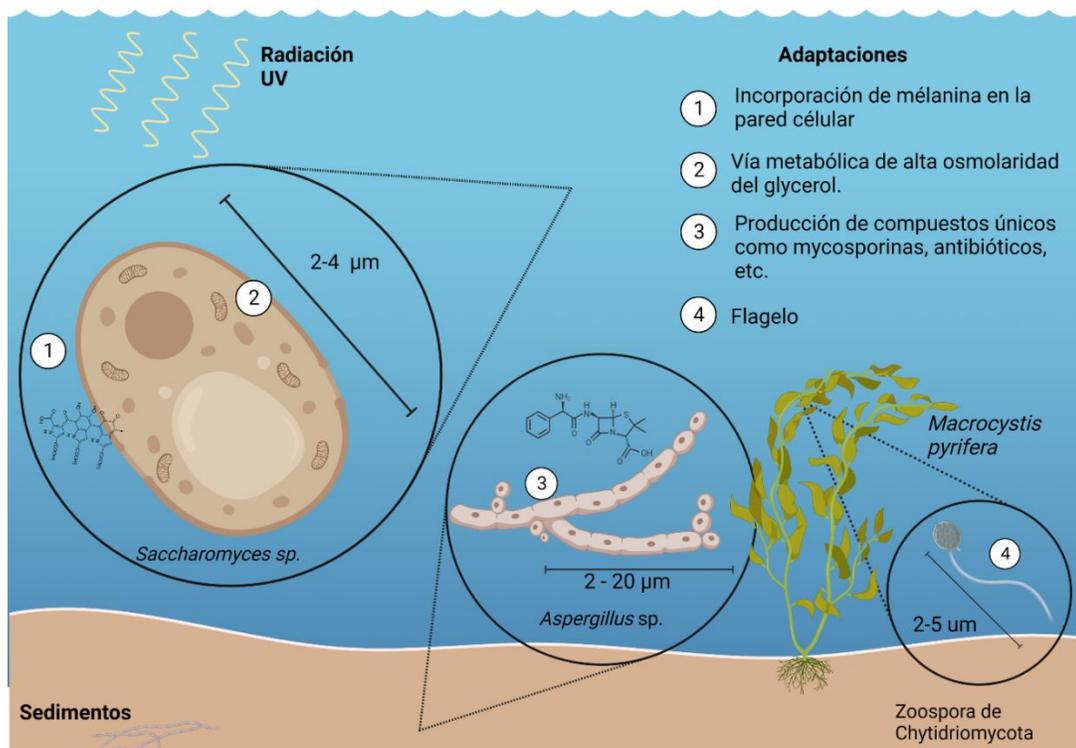


Figura 1. Tres tipos de morfología fúngica en ambientes marinos (de izquierda a derecha: *Saccharomyces sp.*, levadura; *Aspergillus sp.*, hifa; zoospora de Chytridiomycota) y algunas adaptaciones de los hongos marinos. Elaboración propia en Biorender.

Los hongos marinos pueden tener tres tipos de morfología celular: levaduras unicelulares, hifas filamentosas y, en el caso del linaje Chytridiomycota, zoosporas

asexuales móviles (van Hannen *et al.*, 1999 en Roik, 2022), como se puede ver en la figura 1. Sin importar su morfología, todos los hongos comparten el hecho de poseer una pared celular compuesta de quitina (Watkinson, 2016).

Los hongos filamentosos, como se puede observar en el ejemplo de la figura 1, se caracterizan por presentar hifas septadas, es decir, que están divididas por septos que contienen poros. Estos poros permiten el paso de los nutrientes entre las secciones de las hifas (Watkinson, 2016). Las hifas, cada una con una longitud de entre 2 a 20 μm en promedio, forman entramados complejos que se extienden. A este entramado se le llama micelio. Este tipo de estructura les permite a los hongos filamentosos colonizar diferentes tipos de sustratos y propagarse largas distancias (Seena *et al.*, 2022). En general, los hongos filamentosos crecen a través de sustratos sólidos, utilizando enzimas extracelulares para cavar en el sustrato y explotar los recursos en su entorno (Golubic *et al.*, 2005; Le Campion-Alsumard *et al.*, 1995).

A diferencia de los hongos filamentosos, las levaduras son unicelulares y no forman estructuras multicelulares. Este tipo de célula se reproduce principalmente por gemación. En promedio, tienen un tamaño más pequeño, ya que suelen medir entre 3 y 4 μm (Watkinson, 2016).

En contraste, las zoosporas móviles de Chytridiomycota son una característica distintiva de este grupo de hongos. Las zoosporas son estructuras reproductivas flageladas que les permiten moverse activamente en medios acuosos. Estas zoosporas se forman en estructuras especializadas llamadas zoosporangios, que son pequeñas esferas o sacos que contienen una o varias zoosporas (Amend *et al.*, 2019; Roik *et al.*, 2022).

Las zoosporas de Chytridiomycota están equipadas con uno o varios flagelos, que les proporcionan la capacidad de nadar y desplazarse en el agua. Estos flagelos les permiten moverse en busca de nuevos sustratos o en respuesta a estímulos ambientales. Las zoosporas móviles son importantes en la dispersión y colonización de los hongos del grupo Chytridiomycota en diversos hábitats acuáticos. Es importante

destacar que las zoosporas móviles son una característica específica de los hongos del grupo Chytridiomycota y no se encuentran en otros grupos de hongos (Sarma, 2019).

Las condiciones físico-químicas extremas del ambiente marino han contribuido a que los hongos marinos tengan rutas metabólicas y adaptaciones no vistas en sus contrapartes terrestres (Abdel-Lateff, 2008).

Si bien todos los hongos poseen paredes celulares compuestas por múltiples capas de polisacáridos y quitina, hay diferencias cuantitativas en las proporciones de carbohidratos, aminoácidos y amino-azúcares entre los hongos terrestres y los hongos marinos (Ravishankar *et al.*, 2006, en Roik *et al.*, 2022). Además, la pared celular de los hongos marinos presenta melanina, la cual incrementa la rigidez celular, así como la tolerancia a la alta radiación UV y a la presión hidrostática que existe en los medios marinos (Casadevall *et al.*, 2017). Las extremas presiones hidrostáticas encontradas en lo profundo del océano requieren adaptaciones a nivel de la transcripción o la codificación de proteínas, ya que las proteínas son menos estables y las membranas menos fluidas (Gladfelter *et al.*, 2019). Sorprendentemente, no todos los hongos marinos son halófilos; si bien algunos pueden tolerar una salinidad muy alta, la mayoría no muestra preferencia por ella (Roik *et al.*, 2022). Las especies más halotolerantes reportadas han sido las levaduras *Hortaea werneckii*, quienes pueden crecer en ambientes de hasta 5 M NaCl (Hohmann *et al.*, 2007 en Roik, 2023).

Por otro lado, se ha demostrado que cepas de *Aspergillus sydowii* cultivadas en diferentes concentraciones de NaCl presentan diferencias significativas entre sí, lo cual sugiere posibles variaciones en el consumo de nutrientes y la producción de metabolitos secundarios dentro de las mismas especies de hongos en diferentes condiciones de salinidad (Jímenez-Gómez *et al.*, 2022).

Para controlar la turgencia en entornos hipertónicos, los hongos utilizan la vía de señalización de alta osmolaridad del glicerol para aumentar la actividad de las bombas de expulsión de sal y crear osmolitos compatibles con las funciones celulares (Gladfelter *et al.*, 2019). Otra adaptación que presentan los hongos marinos es la

presencia de un flagelo en algunos tipos de esporas asexuales, las cuales también tienen otros tipos de adaptaciones, como apéndices extensos que las mantienen en la columna de agua durante más tiempo. Es notable que este tipo de células solo se encuentra en los linajes de Chytridiomycota (Watkinson, 2016).

Modos de vida tróficos en hongos

Estimar la diversidad funcional de los hongos en los arrecifes representa un desafío debido a varias razones, en particular la plasticidad de los hongos, que les permite adaptarse a una amplia variedad de sustratos y de transitar entre distintas estrategias tróficas (Naranjo-Ortiz y Gabaldón, 2019).

A pesar de estas dificultades, los hongos en los arrecifes se pueden clasificar en tres grupos tróficos con los que se estudian los hongos terrestres (según Tedersoo *et al.*, 2014): patótrofos, simbiótrofos y saprótrofos. Los patótrofos obtienen nutrientes al dañar las células del hospedero, los simbiótrofos obtienen nutrientes mediante el intercambio de recursos con las células del hospedero, y los saprótrofos obtienen nutrientes al descomponer células muertas del hospedero. Aunque estas definiciones tróficas pueden variar entre diferentes campos de estudio, estas categorías amplias son útiles en la ecología de las comunidades fúngicas, ya que reflejan los principales hábitos alimentarios de los hongos (Nguyen *et al.*, 2016). Los hongos patótrofos abarcan varios grupos de hongos que han adoptado un estilo de vida parasitario. Los hongos parásitos de invertebrados utilizan sus habilidades para degradar la quitina para atacar al huésped. Por otro lado, los parásitos de vertebrados deben ser capaces de superar el sistema inmunológico del huésped (Naranjo-Ortiz y Gabaldón, 2019).

Los hongos simbiótrofos representan una categoría importante dentro del reino Fungi, caracterizada por establecer relaciones simbióticas mutuamente beneficiosas con otros organismos. Estas asociaciones simbióticas pueden clasificarse en dos tipos principales: micorrizas y liquenificación. Las micorrizas son simbiosis entre hongos y las raíces de plantas superiores. En este tipo de relación, los hongos micorrícicos se benefician de los compuestos orgánicos producidos por las plantas hospedadoras,

mientras que, a su vez, los hongos proveen a las plantas nutrientes esenciales, como fósforo, a través de una mayor capacidad de absorción y exploración del suelo. Estas asociaciones simbióticas, principalmente las ectomicorrizas y las arbusculares, desempeñan un papel crucial en el ciclo de nutrientes y la salud de los ecosistemas terrestre (Boddy, 2016b). En los ecosistemas marinos, se han registrado hongos que podrían estar teniendo asociaciones de tipo micorriza con algas (Wainwright *et al.*, 2017) pero aún se sabe muy poco sobre estas asociaciones en el arrecife.

Por otro lado, la liquenificación representa una simbiosis establecida entre hongos y algas o cianobacterias fotosintéticas. Los hongos liquenizados proporcionan un entorno protegido y condiciones adecuadas para el crecimiento de las algas o cianobacterias, mientras que estos organismos fotosintéticos suministran a los hongos compuestos orgánicos producidos mediante la fotosíntesis. Juntos, forman estructuras llamadas líquenes, los cuales pueden colonizar una amplia variedad de sustratos, incluyendo rocas, árboles, suelo y sustratos artificiales (Naranjo-Ortiz & Gabaldón, 2019). Estas asociaciones simbióticas entre hongos y otros organismos desempeñan un papel fundamental en la biodiversidad, la estabilidad de los ecosistemas y el funcionamiento de los ciclos biogeoquímicos (Asplund y Wardle, 2016; Rodríguez *et al.*, 2004). En los ecosistemas marinos, los líquenes han sido muy poco estudiados, pero si han sido registrados, sobre todo en rocas de las costas y litorales. Sin embargo, también algunos estudios han mencionado que en entornos marinos se puede desarrollar el fenómeno de micoficobiosis (Hawksworth, 1987), es decir cuando el alga forma la estructura externa del líquen, contrariamente a lo que suele suceder en los líquenes terrestres. Esto plantea posibilidades de fenómenos de liquenización “adentro” de ciertas algas (Hawksworth, 2000).

Los hongos saprótrofos constituyen un grupo importante dentro de la división Fungi que descompone la materia orgánica muerta. Estos hongos desempeñan un papel fundamental en el ciclo de la materia y el reciclaje de nutrientes en los ecosistemas. Se alimentan de materia orgánica en descomposición secretando enzimas extracelulares que descomponen los compuestos orgánicos complejos en moléculas

más simples que pueden ser absorbidas por el hongo. Este proceso de descomposición es esencial para liberar nutrientes y hacerlos disponibles nuevamente para otros organismos en el ecosistema (Watkinson *et al.*, 2016).

Muchos hongos tienen la capacidad de transitar entre diferentes modos tróficos, lo que significa que pueden cambiar su forma de obtener nutrientes (Lutzoni *et al.*, 2001). Por ejemplo, un hongo saprotrófico puede volverse patógeno en ciertas condiciones. Esta plasticidad y adaptabilidad son características importantes de los hongos y les permiten aprovechar diferentes recursos disponibles en su entorno (Amend *et al.*, 2019).

Al igual que las bacterias marinas, muchos hongos marinos no se pueden cultivar en laboratorio, es decir, no se pueden aislar colonias puras utilizando los métodos de cultivo tradicionales. Por lo tanto, las técnicas moleculares, como la secuenciación del ADN, son necesarias para estudiar y estimar la biodiversidad de los hongos marinos. Las especies de hongos "no cultivables" representan un desafío importante en el campo de la micología marina (Gladfelter *et al.*, 2019). El aislamiento de colonias axénicas sigue siendo el estándar para la identificación, descripción y secuenciación de genomas de nuevas especies de hongos marinos. Sin embargo, debido a la dificultad de cultivar muchos hongos marinos, se requiere un enfoque basado en técnicas moleculares para comprender y caracterizar las comunidades fúngicas en los ecosistemas marinos (Rosenberg *et al.*, 2007).

Nichos ecológicos de hongos en arrecifes

Los hongos de los arrecifes pueden existir en varios tipos de nichos ecológicos, es decir microambientes que presentan condiciones físico-químicas diferentes (Ricci *et al.*, 2019). En la figura 2 se puede ver un esquema de algunos de esos micro-nichos ecológicos en los arrecifes de coral.

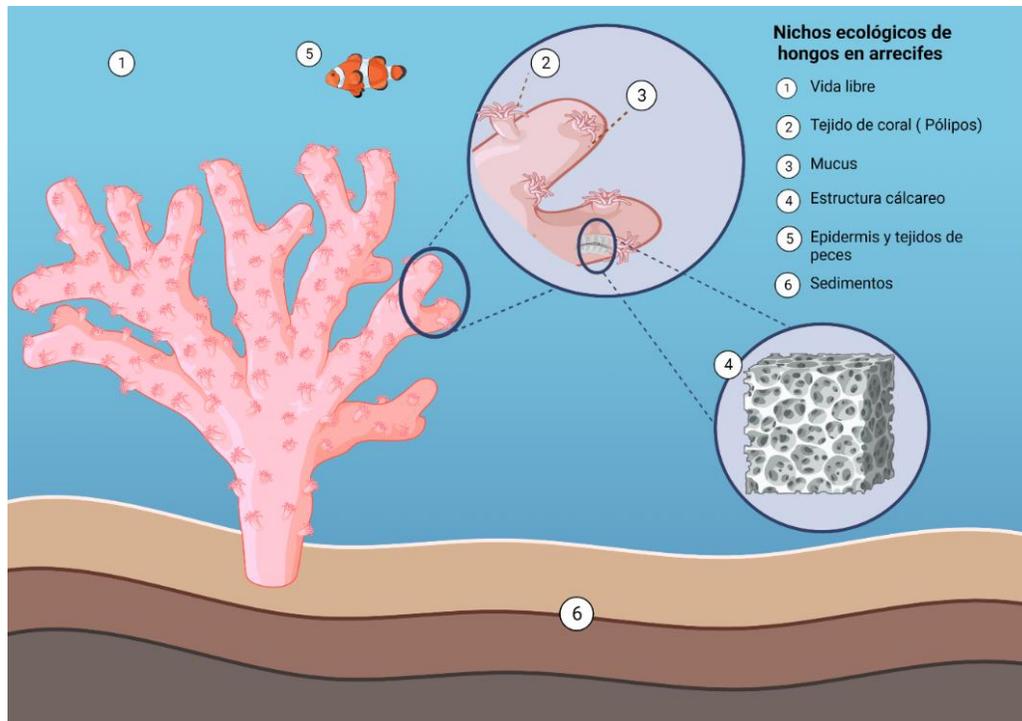


Figura 2. Nichos ecológicos de hongos en arrecifes de coral. Elaboración propia en Biorender. En base a Roik, 2023. Elaboración propia en Biorender.

En el ambiente en "vida libre", es decir, en la columna de agua, existen distintas características a tener en cuenta. La luz es un factor crucial para los organismos fotosintéticos presentes en el agua, como las algas, las cuales pueden servir de sustrato o asociarse con los hongos en esta zona (Boddy, 2016b) .

Otros factores importantes en la columna de agua son el flujo del agua, que puede influir en la dispersión de esporas y células fúngicas, y los nutrientes. Los arrecifes en estado óptimo son ambientes oligotróficos, pero los arrecifes degradados suelen tener mayor concentración de nutrientes en el agua (Desrosiers *et al.*, 2013), lo que podría favorecer la proliferación de hongos en la columna de agua. En este ambiente, no se suelen encontrar hongos con morfología hifal, ya que estos hongos requieren un sustrato sólido para crecer. Sin embargo, se han registrado levaduras, como *Candida spencermartinsiae*, en la columna de agua de arrecifes en Florida y Belice (Statzell-Tallman *et al.*, 2010).

En cuanto a los corales, se trata de cnidarios compuestos por una red interconectada de pólipos que comparten una superficie epitelial continua y un sistema

gastrovascular interno. Los corales son diploblásticos, lo que significa que tienen dos capas de tejido distintas: la epidermis y la gastrodermis, que provienen del ectodermo y endodermo, respectivamente (Putnam *et al.*, 2017). El tejido de coral presenta un rango de espesor que va desde micrómetros hasta centímetros y muestra una estructuración espacial. Durante el día, la luz solar penetra en el tejido coralino, llegando solo pequeñas cantidades de luz principalmente en la región del rojo lejano hasta el esqueleto. Los niveles de oxígeno son altos cerca del tejido y en la zona algal endolítica debido a la fotosíntesis, lo cual también se refleja en un pH elevado en esas zonas. Durante la noche, el oxígeno se agota del esqueleto debido a la respiración, y los niveles de pH disminuyen (Ricci *et al.*, 2019). Además, los tejidos de los corales pueden volverse anóxicos en la oscuridad, llegando a tener menos del 2% de saturación de aire (Wangpraseurt *et al.*, 2016).

El mucus de coral, compuesto por glicoproteínas y lípidos poliméricos, proporciona un entorno nutritivo en el cual una comunidad microbiana diversa prospera, destacando la alta especificidad del hospedero (Rohwer *et al.*, 2002). A pesar del constante contacto del mucus de coral con el agua marina circundante, las comunidades microbianas prevalentes muestran una superposición mínima (Rohwer *et al.*, 2001). Además, se ha planteado la hipótesis de que la comunidad microbiana presente en el mucus del coral actúa como una barrera defensiva, protegiendo al coral de microorganismos invasores mediante la producción de sustancias antimicrobianas o simplemente ocupando este nicho de interfaz (Rosenberg *et al.*, 2007). Se trata de un sistema altamente dinámico, caracterizado por variaciones en su organización molecular y composición a lo largo del tiempo y entre diferentes especies de coral (Glasl *et al.*, 2016). Este ambiente es alto en lípidos (Roik *et al.*, 2023) por lo que podría albergar comunidades de hongos lipofílicos.

En cuanto a la estructura calcárea, las condiciones físico-químicas son muy fluctuantes, lo cual convierte a este microambiente en un lugar extremo. Las fluctuaciones diarias en el pH pueden variar de 7.5 a 8.5, el rango de oxígeno va del 10% al 60% de saturación (Jimenez *et al.*, 2008), la luz varía del 0% al 10% de PAR y

hasta un 80% de NIR (Pernice *et al.*, 2020). También es importante mencionar que las concentraciones de nitrógeno inorgánico disuelto son 10 veces mayores que las del agua circundante en el arrecife (Pernice *et al.*, 2010). Los hongos que habitan en este microambiente pueden clasificarse en dos tipos: los criptoendolitos, que se encuentran dentro de la estructura porosa, y los euendolitos, que penetran activamente los sustratos calcáreos y dejan trazas de perforaciones microscópicas (Le Champion-Alsumard, 1999).

Los hongos también se pueden encontrar en los sedimentos de los arrecifes. Los sedimentos de arrecifes están compuestos principalmente por carbonatos de calcio, ya que generalmente consisten en una variedad de fragmentos esqueléticos, conchas y partes duras de organismos calcificadores asociados a la formación de arrecifes. Por lo tanto, los sedimentos representan restos directos de corales, algas rojas, algas verdes, foraminíferos, moluscos y otros organismos, o se derivan de la actividad de bioerosionadores como esponjas perforadoras, peces loro y erizos de mar (Perry *et al.*, 2008). La granulometría de estos sedimentos suele ser fina a media y suelen presentar una estructura porosa, lo que significa que entre las partículas de sedimento hay espacio para el intercambio de agua, gases y nutrientes (Janßen *et al.*, 2017), lo cual también propicia la presencia de hongos.

Por último, los hongos también se pueden encontrar en otros organismos del arrecife, como peces, crustáceos y esponjas, entre otros (Roik *et al.*, 2022 y Ainsworth *et al.*, 2017).

Interacciones de las comunidades fúngicas en el holobionte

Todas las comunidades de microorganismos del holobionte coral están en interacción, no solo con el hospedero, si no entre ellas. Las interacciones suelen estar ligadas al modo de vida trófico, aunque no siempre de manera directa.

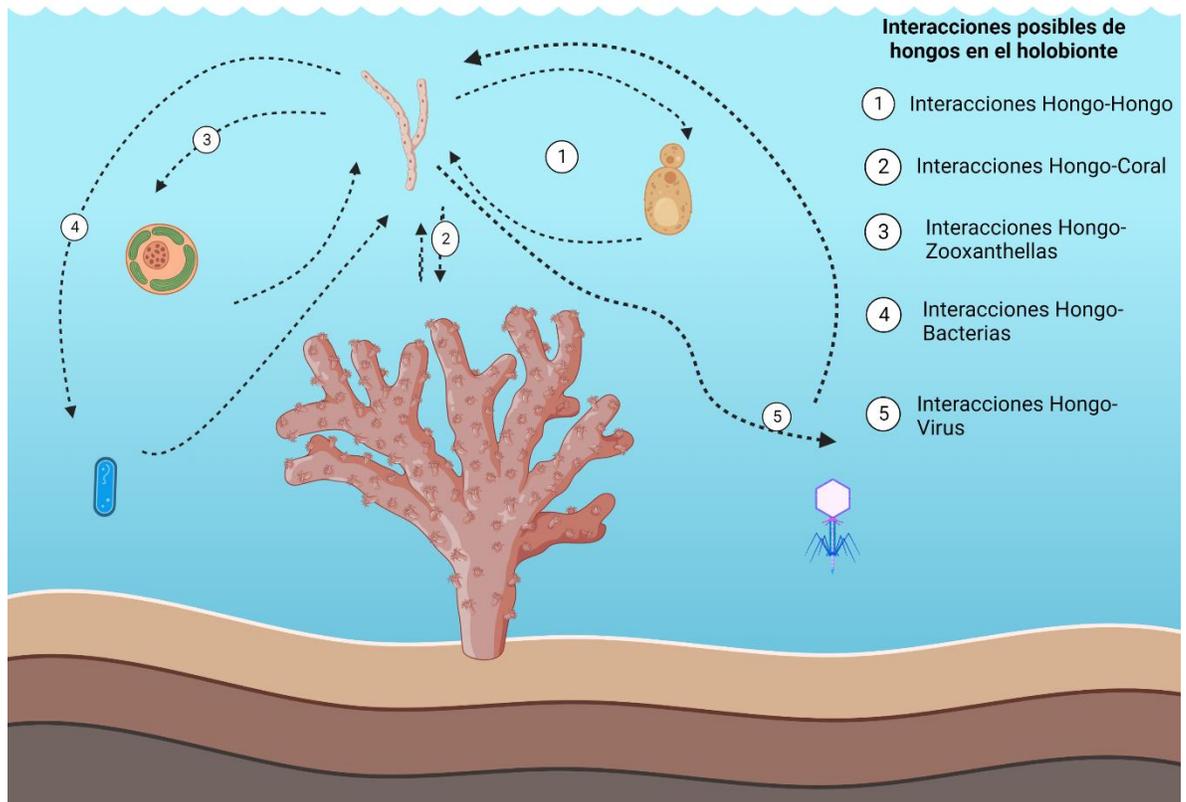


Figura 3. Algunos de los microorganismos con los que los hongos tienen interacciones. Elaboración propia en Biorender.

En la figura 3 se pueden observar algunas de las relaciones que pueden mantener los hongos dentro del holobionte de coral. Las comunidades fúngicas del holobionte de coral interactúan con diferentes especies de microalgas que habitan en los corales, así como con bacterias, virus, arqueas, nematodos y otros protistas, entre otros. Estas interacciones pueden ser beneficiosas, negativas o neutras para los hongos. Además, las diversas especies de hongos también interactúan entre sí (Boddy, 2016b).

Es importante destacar que todos los hongos interactúan negativamente con otros organismos en algún momento de sus vidas. Para algunos hongos, la interacción negativa es una forma de vida y su principal manera de obtener nutrientes, como en el caso de patógenos o parásitos. Para otros hongos, la interacción negativa también está relacionada directa o indirectamente con la obtención de alimentos, lo cual a menudo se describe como competencia. La competencia se refiere al efecto negativo

que un organismo tiene sobre otro debido al consumo de un recurso de disponibilidad limitada o al control del acceso a dicho recurso (Watkinson *et al.*, 2016).

La comprensión de estas interacciones se ve facilitada por la clasificación de los hongos en diferentes gremios funcionales. El concepto de gremio funcional, también conocido como 'grupo funcional' fue propuesto por Schimper y Fisher en 1902 y se refiere a un grupo de especies, relacionadas o no, que explotan la misma clase de recursos ambientales de manera similar (Root, 1967 en Nguyen, 2016).

Los hongos se agrupan en gremios como patógenos animales, hongos micorrícicos, endofitos foliares, micoparásitos, entre otros, lo que permite analizar cómo estos grupos interactúan dentro del arrecife coralino. En conjunto, la comprensión de los gremios de hongos nos permite tener una aproximación a las interacciones que llevan a cabo en el arrecife coralino, y nos proporciona una base para investigar la dinámica de las comunidades fúngicas de este ecosistema.

Tabla 1. Interacciones posibles entre hongos y otros microorganismos. Modificado de Boddy, 2016a.

Interacción	Efecto en las especies/individuos	Simplificado
Mutualismo	Ambos afectados positivamente	Beneficio para ambos o uno, pero no es detrimental para ninguno
Comensalismo	Uno está afectado positivamente y el otro no está afectado	
Competición/Combate	Los dos son afectados negativamente	Detrimental para uno o para ambos
Parasitismo/predación	Uno es positivamente afectado en detrimento del otro	
Amensalismo	Uno es negativamente afectado, cuando el otro no es afectado	
Neutralismo	Ninguna de las actividades de uno tiene efecto en el otro	Ninguno está afectado

En los siguientes apartados se presentarán algunos detalles de las interacciones hongo-hongo, hongo-coral y hongo zooxanthellas. Las interacciones hongo-bacterias y hongo-virus no se tratarán aquí ya que hay muy poca información sobre el tipo de interacciones que puedan estar teniendo fuera del rol antimicrobiano y antiviral de los

hongos, lo cual será tratado en el apartado siguiente, sobre el potencial biotecnológico de los hongos de coral.

Interacciones Hongo-coral

Las comunidades de hongos en los corales pueden establecer diferentes tipos de asociaciones con los hospederos, es decir, los corales. Por un lado, se ha sugerido que los hongos endolíticos presentes en los corales contribuyen al ciclo de nutrientes al descomponer la materia orgánica, como células muertas. Estos hongos pueden actuar como bioerosionadores, parásitos o patógenos oportunistas, atacando a las algas filamentosas del género *Ostreobium* e intentando penetrar en el tejido vivo del coral (Bentis *et al.*, 2000; Le Campion-Alsumard *et al.*, 1995). Sin embargo, el coral tiene mecanismos de defensa para contrarrestar estos ataques, formando capas de aragonita de reparación alrededor de las hifas invasoras (Bentis *et al.*, 2000).

Por otro lado, los hongos pueden actuar como patógenos para los corales. Un caso estudiado es la presunta epidemia que causa aspergilosis en los octocorales (Soler-Hurtado *et al.*, 2016). Se han observado brotes de aspergilosis que afectan a diferentes especies de octocorales en el Caribe, el Atlántico tropical y el Pacífico Oriental Tropical (Smith y Weil, 2004; Barrero-Canosa *et al.*, 2013). Los síntomas de la aspergilosis incluyen lesiones y retracción del tejido, decoloración de los tejidos afectados y formación de tumores. Se ha identificado al hongo saprobio *Aspergillus sydowii* como el presunto agente causante de la enfermedad (Smith *et al.*, 1996), aunque esa especie también se ha identificado en corales sanos (Toledo-Hernández *et al.*, 2008). Además, se han reportado hongos del género *Aspergillus* asociados a la enfermedad de la banda negra en Mozambique y Polinesia francesa (Priess *et al.*, 2000).

En el ámbito de las investigaciones sobre las asociaciones mutualistas entre hongos y corales, destaca el estudio realizado por Domart-Coulon y colaboradores (2004). Este estudio se centró en investigar las interacciones beneficiosas que pueden establecer los hongos en el contexto coralino. Los investigadores aislaron y cultivaron una cepa fúngica del género *Cryptococcus* que se encontraba asociada al esqueleto de los

corales. Los resultados mostraron que la presencia de esta cepa fúngica condujo a una prolongación a corto plazo de la supervivencia de las células de coral, especialmente las células esqueléticas. Esto sugiere que el hongo *Cryptococcus* sp. puede desempeñar un papel beneficioso en la respuesta defensiva del coral, mejorando la supervivencia de sus células esqueléticas (Domart-Coulon *et al.*, 2004)

En relación a su papel como saprótrofos, se llevó a cabo un estudio en 2007 que contribuyó al limitado conocimiento existente. En este estudio, se empleó un procedimiento de fraccionamiento con el fin de separar los microbios, las mitocondrias y los virus de las células animales del coral y las zooxantelas. El ADN metagenómico resultante fue secuenciado mediante pirosecuenciación. Se identificaron con mayor frecuencia hongos, bacterias y fagos como los organismos presentes en el metagenoma. Tres de los cuatro filos fúngicos estuvieron representados, revelando una amplia diversidad de genes fúngicos relacionados con el metabolismo del carbono y del nitrógeno. Estos hallazgos sugieren que la comunidad endolítica posee una importancia mayor de la que se le había atribuido previamente. Específicamente, los datos indican que los hongos endolíticos podrían desempeñar un papel en la conversión del nitrato y nitrito en amoníaco, lo que permitiría el reciclaje del nitrógeno fijado dentro del holobionte coralino (Wegley *et al.*, 2007).

Por otro lado, en situaciones de estrés, como el blanqueamiento del coral causado por una ola de calor marina, se ha observado una mayor presencia de hifas fúngicas en los tejidos del coral, lo que sugiere una posible vulnerabilidad del coral ante infecciones fúngicas oportunistas debido a su sistema inmunológico debilitado (Roik *et al.*, 2022).

Interacciones hongo- hongo

Horowitz Brown y colaboradores (2008) examinaron el proceso de diferenciación del hongo *Aspergillus flavus*, que puede generar esporas asexuales (conidios) y estructuras de supervivencia invernal llamadas esclerocios. Los resultados revelaron

que estos dos procesos están regulados de manera opuesta por mecanismos dependientes de la densidad celular. A medida que la densidad celular aumenta, se observa una disminución en el número de esclerocios y un incremento en el número de conidios. Además, encontraron que los extractos del medio de cultivo de baja y alta densidad celular tienen efectos opuestos en la diferenciación: el extracto de baja densidad celular promueve la formación de esclerocios, mientras que el de alta densidad celular estimula la conidiación.

Se demostró también que la disponibilidad de lípidos afecta el desarrollo de manera dependiente de la densidad de *A.flavus*. Estos resultados pueden tener implicaciones en la comprensión de las interacciones entre comunidades fúngicas del coral, ya que la densidad celular y la disponibilidad de lípidos pueden influir en la dinámica y la comunicación entre ellos (Horowitz Brown *et al.*, 2008).

Interacciones Hongo-Zooxanthella

En investigaciones previas, se ha demostrado que los corales albergan dinoflagelados fotosintéticos del género *Symbiodinium*, los cuales presentan altas concentraciones intracelulares de dimetilsulfoniopropionato (DMSP), una molécula antiestrés producida por muchos organismos del fitoplancton marino (Hill *et al.*, 1995 y Broadbent *et al.*, 2002). Cuando estos organismos liberan DMSP al medio ambiente, otros microorganismos marinos pueden utilizar diversas vías de catabolismo para descomponer el DMSP (Yoch, 2002). A nivel mundial, estas transformaciones biológicas generan una cantidad anual de más de 10^9 toneladas de DMSP. Algunas de estas vías de catabolismo producen sulfuro de dimetilo (DMS), un gas con influencia ambiental, ya que los productos de la oxidación del DMS actúan como núcleos de condensación de nubes, lo que causa la formación de cobertura nubosa sobre los océanos (Sievert *et al.*, 2007). Se ha descubierto que ciertos hongos ascomicetos presentes en la rizosfera de la planta de marisma salada *Spartina*, una de las pocas angiospermas que produce DMSP (Otte *et al.*, 2004), tienen la capacidad de catabolizar esta molécula, liberando DMS en el proceso. Este fenotipo, conocido como

Ddd+, también se ha observado en *Aspergillus oryzae*, utilizado en la fermentación de la salsa de soja, así como en *Aspergillus flavus* y en los patógenos de los cultivos *Fusarium graminearum* y *F. oxysporum* (Todd *et al.*, 2009).

La capacidad de catabolizar el DMSP puede conferir una ventaja selectiva a los microorganismos fúngicos que habitan en lugares de alta productividad de DMSP, como los corales, ya que les proporcionaría acceso a un sustrato abundante. Investigaciones futuras que involucren la caracterización de estos microorganismos, así como la exploración de la posible transferencia horizontal de genes entre bacterias y hongos (Kirkwood *et al.*, 2010), serán fundamentales para comprender mejor la importancia de esta interacción hongo-hongo y su implicación en la salud y el funcionamiento de estos ecosistemas.

Potencial biotecnológico de los hongos de corales

Los hongos de coral tienen un potencial biotecnológico significativo debido a sus propiedades únicas y a la diversidad de compuestos bioactivos que producen. En 2013, Bao e investigadores del Instituto de Oceanografía de China, reportaron que un hongo del género *Penicillium* que aislaron de un ejemplar de coral *Dichotella gemmacea* del mar del Sur de China, exhibió actividad antibacteriana contra *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* (Bao *et al.*, 2013). Otros estudios que exhiben el potencial antimicrobiano de algunos extractos de hongos son el de Tahany y colaboradores (2020), quienes aislaron hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium* de corales del Mar Rojo en Egipto e investigaron las actividades antimicrobiana, antioxidante, antirradical y citotoxicidad de las especies fúngicas más predominantes. Se investigó la actividad antimicrobiana de los filtrados fúngicos de coral contra seis bacterias patógenas, incluyendo *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y varias especies de *Candida*. La mayoría de estos filtrados fúngicos mostraron actividades antibacterianas moderadas a altas contra bacterias tanto grampositivas como gramnegativas. En particular, las especies de *Aspergillus* exhibieron alta actividad antimicrobiana contra las bacterias *B. subtilis*,

P. aeruginosa y *S. aureus* (Tahany *et al.*, 2020). Sin embargo, el potencial antimicrobiano y antiviral no es el único foco de interés. En la figura 4, se pueden observar algunas de las posibles industrias en las que podrían ser aplicados los metabolitos y otros compuestos producidos por los hongos de coral.

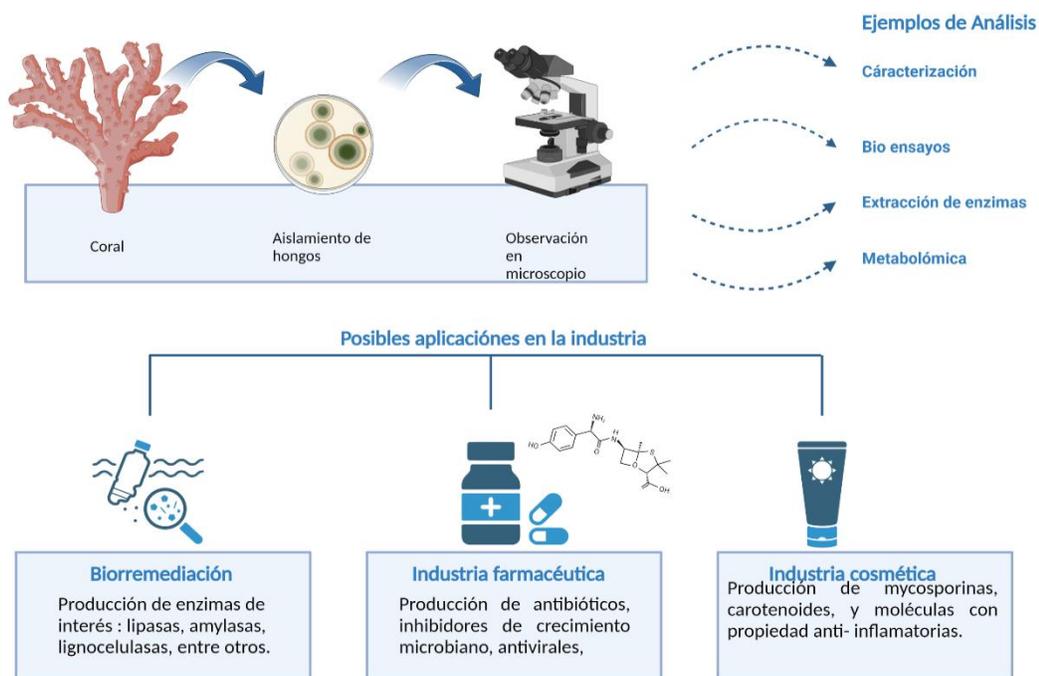


Figura 4. Ejemplos de análisis posibles para usos potenciales en la industria. Se muestran tres ejemplos de industrias donde se pueden aplicar bioproductos de hongos de coral. Elaboración propia en Biorender.

En el ámbito de los cosméticos, hay líneas de investigación muy interesantes. Hongos como *Phaeothea sp.*, aislados en corales, son capaces de producir micosporina, un compuesto bioactivo fotoprotectores que puede prevenir el envejecimiento causado por factores externos como la exposición solar (Mitchison-Field *et al.*, 2019). Otros compuestos interesantes son los carotenoides, moléculas que poseen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias que ofrecen protección contra la radiación solar (Ambati *et al.*, 2014).

Finalmente, el potencial probiótico de los hongos asociados a los arrecifes aún no ha sido explorado en profundidad (Wang *et al.*, 2021). Sin embargo, diversas características fúngicas, como sus capacidades metabólicas y su secretoma, presentan

similitudes con las funciones beneficiosas deseadas para los probióticos de coral, tal como se ha descrito en Peixoto *et al.* (2021). Se ha sugerido que los probióticos podrían mitigar el estrés celular mediante sus propiedades antioxidantes, lo que podría ayudar a contrarrestar los efectos del estrés térmico en los holobiontes de coral (Dungan *et al.*, 2021). En ambientes terrestres, se ha observado que los hongos contribuyen a mantener la homeostasis oxidativa en las simbiosis micorrícicas (Wang *et al.*, 2017), por lo que hay razones para investigar los posibles roles de los productos fúngicos asociados al coral, como enzimas antioxidantes (Gostinčar y Gunde-Cimerman, 2018), compuestos fotoprotectores (Sinha *et al.*, 2007) u otro tipo de moléculas, y determinar si podrían ser utilizados en la mitigación del estrés en los corales. Un estudio de 2020 detectó una enzima esencial para la degradación de la lignina recalcitrante producida por especies fúngicas (Kimes *et al.*, 2010). Esto es destacable al considerar la observación realizada por Thurber e investigadores en 2009, quienes encontraron que los corales de arrecifes degradados mostraban una mayor asociación con hongos (Thurber *et al.*, 2009).

Además, los antibióticos fúngicos podrían estar protegiendo a los corales mediante producción de antibióticos. Por ejemplo, la amoxicilina con la que se ha tratado la SCTLD (Shilling *et al.*, 2021) es un derivado de la penicilina producida por hongos del género *Penicillium* (Castle, 2007). Otra línea de investigación de interés es sobre las moléculas de comunicación intercelular de tipo *quorum sensing* podrían brindar beneficios a sus hospedadores marinos al protegerlos contra la entrada de patógenos (Martín-Rodríguez *et al.*, 2014) y/o mediante la actividad antiincrustante de los hongos, lo cual podría ser crucial para mantener la comunidad microbiana asociada al hospedador en momentos de estrés (Xu *et al.*, 2015).

[Enfermedad de pérdida de tejido de coral pétreo \(SCTLD\)](#)

La SCTLD se registró por primera vez en 2014, en Florida. Esta enfermedad se propagó rápidamente por el Arrecife de Coral de Florida y en poco tiempo se encontraba ya en diversos lugares del Atlántico Tropical Occidental. Diversos estudios (Alvarez-Filip *et*

al., 2019; Thome *et al.*, 2021) han documentado su presencia en México. La SCTLD afecta a aproximadamente la mitad de las 45 especies de corales escleractinios presentes en los arrecifes del Caribe, incluyendo especies cruciales para la formación de arrecifes e incluso algunas clasificadas como en peligro de extinción según la Lista Roja de la IUCN (Aeby *et al.*, 2019).

La SCTLD se caracteriza por la aparición de lesiones agudas, subagudas o crónicas de pérdida de tejido que se propagan de manera focal o multifocal en toda la colonia, dejando expuesto la estructura calcárea del coral. Algunas especies pueden presentar tejido blanqueado cerca de las áreas afectadas (Aeby *et al.*, 2019). Inicialmente, la SCTLD fue identificada como una enfermedad o síndrome similar a la plaga blanca, debido a sus características similares a otras enfermedades de pérdida de tejido (Precht *et al.*, 2016) pero finalmente fue descartado y se considera que es una enfermedad aparte. Como sucede con muchas enfermedades coralinas, ha sido difícil identificar de manera definitiva el patógeno responsable de la SCTLD. Varios estudios han demostrado que la progresión de las lesiones puede ralentizarse o detenerse en algunas especies de coral mediante el uso de antibióticos tópicos, como la Amoxicilina, lo que sugirió la posibilidad de que el o los presuntos patógenos de la SCTLD tengan un componente bacteriano, por lo que muchos estudios indagaron en ese sentido (Shilling *et al.*, 2021; Aeby *et al.*, 2019). Sin embargo, en 2023, Beavers y colaboradores demostraron que la SCTLD es causada probablemente por un virus que afecta las algas de la familia Symbiodiniaceae (Beavers *et al.*, 2023).

Existe una variación en la susceptibilidad de las especies de coral a la SCTLD, lo cual es una característica distintiva de esta enfermedad. Las especies altamente susceptibles, que suelen ser las primeras afectadas durante un brote, experimentan una rápida progresión de la enfermedad, con una mortalidad total que puede variar desde una semana en colonias más pequeñas hasta 1 o 2 meses en colonias más grandes. En especies de susceptibilidad intermedia, la pérdida de tejido se produce aproximadamente un mes después del inicio en especies altamente susceptibles, y las colonias más pequeñas experimentan mortalidad durante varios meses, mientras que

las colonias más grandes pueden sufrir mortalidad durante varios años, con la posibilidad de desarrollar nuevas lesiones (Sharp *et al.*, 2020 en B. Walker *et al.*, 2021). En comparación con otras enfermedades de coral, la SCTLD presenta una progresión más rápida de las lesiones dentro de una colonia (Alvarez-Filip *et al.*, 2019). Esta rápida progresión y las altas tasas de mortalidad han provocado una disminución significativa en la cobertura de coral del Caribe mexicano (Alvarez-Filip *et al.*, 2019).

Se han observado diferencias en las comunidades bacterianas entre corales aparentemente sanos y aquellos afectados por la SCTLD (Rosales *et al.*, 2022). Aunque se ha logrado avanzar en el conocimiento del microbioma bacteriano y sus alteraciones asociadas con la SCTLD, el estudio de los hongos en este contexto ha sido limitado.

Siderastrea siderea

Siderastrea es un género de corales que pertenece a la familia Siderastreidae, Orden Scleractinia, subclase Hexacorallia. Son corales masivos abundantes en el sistema de arrecifes de Florida (Lirman & Fong, 2007). La especie *S. siderea* se considera una de las más adaptables en los arrecifes del Caribe, ya que es relativamente resistente a varios factores de estrés ambiental (Castillo *et al.*, 2014) y se caracteriza por tener altas tasas de recuperación después de eventos de blanqueamiento importantes (Banks & Foster, 2017). Un estudio del 2018 que analizó la estructura de la comunidad fúngica de *S. siderea* reportó que 34 de 39 de los OTUs asignados a hongos pertenecían a la división Ascomycota, mientras que la división Basidiomycota solo tenía 2 OTUs reportados. Bonthond y colaboradores (2018) reportaron que hongos pertenecientes a la familia Lulworthiales representaron casi la mitad de la abundancia relativa de las lecturas correspondientes a hongos de su estudio sobre el microbioma de *S. siderea*. Encontraron también hongos que mostraron 86% de similitud con la familia Xylariales. Algunos estudios han planteado que la susceptibilidad de *S. siderea* a la SCTLD es relativamente baja comparada con otras especies (Brandt *et al.*, 2021).

Montastrea cavernosa

M. cavernosa es un coral de la familia Montastraeidae, orden Scleractinia, subclase Hexacorallia. Este coral masivo presenta una morfología distintiva con grandes coralitos que se asemejan a las circunvoluciones del cerebro humano, de ahí su nombre común. Es una especie dominante en muchos arrecifes caribeños y desempeña un papel crucial en la formación y estructura de los hábitats de coral (Beltrán-Torres y Carricatt-Ganivet, 1993). Esta especie ha sido descrita como altamente susceptible a la SCTL (Brandt *et al.*, 2021). En cuanto a la presencia de hongos, se han reportado del género *Lulworthia* en corales aparentemente sanos de la especie *M. cavernosa* (Goes-Neto *et al.*, 2020).

Orbicella faveolata

Esta especie de coral pertenece a la familia Merulinidae, orden Scleractinia y son comunes en el océano Atlántico. Algunos estudios han determinado que *O.faveolata* es medianamente susceptible a la SCTL (Meiling *et al.*, 2021; Brandt *et al.*, 2021). Investigaciones previas reportaron la presencia del hongo *Ostreobium queckettii* en la estructura cálcarea de ejemplares de *O.faveolata* en Xcalak, Quintana Roo (Gutiérrez-Isaza *et al.*, 2015).

ANTECEDENTES

El único reporte que se conoce sobre la afectación de la SCTL D en comunidades fúngicas fue publicado en el 2020, por el Departamento de Protección Ambiental de Florida, en el que se investigaron diversas especies de coral, como *Montastraea cavernosa*, *Orbicella faveolata* y *Siderastrea siderea*, usando técnicas de secuenciación masiva y cebadores ITS. Los resultados preliminares del análisis de coordenadas principales basado en las distancias de Bray-Curtis revelaron que las muestras se agruparon principalmente según la especie de coral (Salerno y Peters, 2020).

Sin embargo, es notable que al no tener la misma cantidad de muestras por especie de coral y tener una subrepresentación de ejemplares enfermos, el estudio no logró proporcionar una base sólida para llegar a conclusiones definitivas. El examen de la abundancia relativa de taxones en las muestras reveló una alta presencia de hongos no identificados. Un hongo del género *Corticarius* estuvo presente en algunos ejemplares del estudio, incluyendo en un ejemplar enfermo de *Siderastrea siderea*. Por otro lado, reportaron cómo abundante la especie *Malassezia restricta* en ejemplares sanos de *Colpophyllia natans*. Sin embargo, no lograron identificar la mayoría de las especies de hongos que encontraron y tampoco se pudieron observar patrones en la estructura de las comunidades fúngicas en ejemplares sanos y enfermos de la misma especie (Salerno y Peters, 2020).

JUSTIFICACIÓN

Dada la marcada disminución de los arrecifes de coral a nivel global (Gardner *et al.*, 2003; van Hooidonk *et al.*, 2014), en parte debido a enfermedades como la SCTLD, existe una necesidad urgente de desarrollar una mejor comprensión de la contribución del microbioma a la resistencia y adaptación del holobionte. Este estudio tiene como objetivo contribuir al esfuerzo de comprender mejor la estructura de las comunidades fúngicas en corales y los cambios en las mismas en organismos afectados por la SCTLD.

HIPOTÉISIS

Las comunidades fúngicas de corales han sido descritas como especie-dependiente, por lo que se espera encontrar diferencias en las comunidades fúngicas de las 3 especies de coral del Caribe mexicano. Además, también se espera encontrar cambios en las comunidades fúngicas de la misma especie pero con afectaciones por la SCTLD.

OBJETIVOS

Objetivo general

Caracterizar la composición taxonómica de las comunidades fúngicas presentes en tres especies de coral en el Caribe Mexicano, con el objetivo de identificar posibles variaciones entre muestras que aparentan estar en buen estado de salud y aquellas afectadas por la SCTLD.

Objetivos específicos

1. Identificar y caracterizar la composición de las comunidades fúngicas presentes en muestras de corales aparentemente sanas.
2. Comparar las comunidades fúngicas encontradas en muestras de coral aparentemente sanas con aquellas afectadas por la SCTLD.
3. Relacionar las comunidades fúngicas detectadas con los gremios funcionales a los cuales han sido asociadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolecta de muestras

El muestreo se llevó a cabo por el equipo del Dr. Paz del CIBNOR en Punta Tanchacté y Cuevitas-Dream, en Quintana Roo durante el mes de septiembre 2019. Las muestras de tejido de colonias aparentemente sanas y enfermas de las tres especies de coral fueron tomadas con ayuda de un martillo y un clavo para desprender fragmentos de 2 cm² aproximadamente de tejido de coral. Una vez sacadas las muestras, se utilizó papel secante para eliminar el mucus. Posteriormente las muestras fueron fragmentadas usando tijeras y pinzas limpias para colocar en tubos de plástico estériles con 10 ml de RNA Later. Las muestras fueron colocadas en refrigeración a 4°C durante 24h y fueron almacenadas después a -20°C hasta su procesamiento (Aguayo, 2023).

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó usando 0.2 g de muestra y el kit DNeasy Blood & Tissue de QIAGEN™ en los laboratorios CIBNOR por el equipo del Dr. David Paz. Posteriormente, se verificó la calidad de la extracción con electroforesis en geles de agarosa al 1%. Las extracciones fueron conservadas a -20°C hasta su procesamiento.

Preparación de bibliotecas

Se trabajo con 39 extracciones, correspondientes a 34 colonias de coral, de las cuales, 8 correspondieron a muestras de la especie *M.cavernosa*, 14 a muestras de *O.faveolata* y 16 a muestras de *S.siderea*. En la tabla 2, se puede observar el nombre de la colonia, la especie de coral a la cual pertenece, el estado de salud del coral y el sitio de muestreo. A fines prácticos se anotó como “sano” pero hay que remarcar que en realidad nos referimos a un estado de salud aparente, es decir que son ejemplares que no presentaban lesiones de SCTL. En cuanto a los sitios de muestreo, 25 de las 34 muestras provenien de Tanchacté y 9 de Cuevitas-Dream.

Tabla 2. Relación de muestras colectadas por especie de coral y estado de salud asociado.

SampleID	Coral	Salud	Lugar
COL378	<i>Montastrea cavernosa</i>	Enfermo	Tanchacté
COL381B	<i>Montastrea cavernosa</i>	Enfermo	Tanchacté
COL382	<i>Montastrea cavernosa</i>	Enfermo	Tanchacté
COL429B	<i>Montastrea cavernosa</i>	Enfermo	Cuevitas-Dream
COL379	<i>Montastrea cavernosa</i>	Enfermo	Tanchacté
COL359	<i>Montastrea cavernosa</i>	Sano	Tanchacté
COL354	<i>Montastrea cavernosa</i>	Sano	Tanchacté
COL355	<i>Montastrea cavernosa</i>	Sano	Tanchacté
COL346	<i>Orbicella faveolata</i>	Enfermo	Cuevitas-Drean
COL434	<i>Orbicella faveolata</i>	Enfermo	Cuevitas-Dream
COL424	<i>Orbicella faveolata</i>	Enfermo	Cuevitas-Dream
COL374	<i>Orbicella faveolata</i>	Enfermo	Tanchacté
COL383	<i>Orbicella faveolata</i>	Enfermo	Tanchacté
COL397	<i>Orbicella faveolata</i>	Enfermo	Tanchacté
COL396	<i>Orbicella faveolata</i>	Enfermo	Tanchacté
COL427	<i>Orbicella faveolata</i>	Enfermo	Cuevitas-Dream
COL353	<i>Orbicella faveolata</i>	Sano	Tanchacté
COL423	<i>Orbicella faveolata</i>	Sano	Cuevitas-Dream
COL426	<i>Orbicella faveolata</i>	Sano	Cuevitas-Dream
COL361	<i>Orbicella faveolata</i>	Sano	Tanchacté
COL358	<i>Orbicella faveolata</i>	Sano	Tanchacté
COL362	<i>Orbicella faveolata</i>	Sano	Tanchacté
COL363MM	<i>Siderastrea siderea</i>	Enfermo	Tanchacté
COL364	<i>Siderastrea siderea</i>	Enfermo	Tanchacté
COL365	<i>Siderastrea siderea</i>	Enfermo	Tanchacté
COL366	<i>Siderastrea siderea</i>	Enfermo	Tanchacté
COL431	<i>Siderastrea siderea</i>	Enfermo	Cuevitas-Dream
COL433	<i>Siderastrea siderea</i>	Enfermo	Cuevitas-Dream
COL364HF	<i>Siderastrea siderea</i>	Enfermo	Tanchacté
COL365HF	<i>Siderastrea siderea</i>	Enfermo	Tanchacté
COL363HF	<i>Siderastrea siderea</i>	Enfermo	Tanchacté
COL367	<i>Siderastrea siderea</i>	Enfermo	Tanchacté
COL385HF	<i>Siderastrea siderea</i>	Sano	Tanchacté
COL386HF	<i>Siderastrea siderea</i>	Sano	Tanchacté
COL386	<i>Siderastrea siderea</i>	Sano	Tanchacté
COL392	<i>Siderastrea siderea</i>	Sano	Tanchaté
COL393	<i>Siderastrea siderea</i>	Sano	Tanchacté
COL385	<i>Siderastrea siderea</i>	Sano	Tanchacté

Amplificación de la región ITS

La amplificación por PCR de la región ITS se realizó con los cebadores de Illumina™ ITS1-F (5'CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A-3' (Gardes y Bruns, 1993) y ITS2 (5'-GCT GCG TTC TTC ATC GAT GC-3' (White *et al.* 1990) e incluyeron los adaptadores Illumina. La reacción se realizó de dos maneras. Para las muestras de *S. siderea* y de *O. faveolata*, se realizó una reacción con 12.5 µL de Promega PCR Master Mix™, 0.25 µL de ITS-1, 0.25 µL de ITS-2, 10.25 µL de H₂O y 1 µL de ADN. En el caso de las muestras de *M. cavernosa*, se usó la siguiente reacción: 10.5 µL de enzima HF™, 0.25 µL de ITS-1, 0.25 µL de ITS-2, 7 µL de H₂O y 2 µL de ADN. También es notable que algunas muestras de *S. siderea* fueron procesadas con las dos reacciones, con el objetivo de poder observar si había diferencias en los OTUs encontrados según la reacción usada, en ese caso tienen HF en el nombre, como se puede ver en la tabla 2.

El protocolo de la reacción en cadena de la polimerasa fue tomado del Earth Microbiome Project y tuvo una desnaturalización inicial de 94°C durante 1 minuto, seguido de 35 ciclos de 94°C durante 30 segundos, 52°C durante 30 segundos, 68°C durante 30 segundos, seguido de una extensión a 68°C durante 7 minutos. Los productos de la PCR fueron conservados a -20°C hasta su posterior procesamiento. Se realizó electroforesis en geles de agarosa al 1% para verificar la calidad de las amplificaciones de la región ITS.

Purificación

Se realizó una primera purificación usando perlas magnéticas AMPure XP™ para eliminar restos de cebadores y mantener únicamente los amplicones de interés. Esta purificación fue realizada según el protocolo de Illumina.

Adición de índices de secuenciación

Se realizó una PCR con el siguiente programa: 95°C durante 3 minutos, seguido de 8 ciclos de 95°C durante 30 segundos, 55°C durante 30 segundos, 72°C durante 30 segundos, finalizando con 72°C durante 5 minutos seguido de la mantención a 4°C.

Esta reacción se realizó partiendo de 5 μ L del producto de PCR purificado, con 2 μ L de cada uno de los índices S y N del kit de Nextera XT™.

Normalización y secuenciación

Se cuantificaron los productos con un Fluorómetro Qubit® 3.0 de Invitrogen®, y de acuerdo con su concentración, se hizo un pool de todas las muestras que iban a secuenciarse. Se utilizó el Secuenciador DNA MiSeq de Illumina™® en el área de Microbiología del Laboratorio de Patología Acuática, CINVESTAV Unidad Mérida.

Bioinformática

Se utilizó PIPITS (Gweon *et al.*, 2015), un flujo de trabajo automatizado para procesar conjuntos de datos de secuencias, desde el filtrado de calidad hasta la generación de una tabla de abundancia de especies de secuencias de ITS fúngicas. PIPITS depende de varias aplicaciones para funcionar: VSEARCH (Rognes, 2016), RDP Classifier (Wang *et al.*, 2007), ITSX (Bengtsson-Palme *et al.*, 2013), BIOM-FORMAT v1.3 (McDonald *et al.*, 2012), PEAR (Zhang *et al.*, 2014) y FASTX- TOOLKIT (Hannon, 2010). Se optó por trabajar con esta herramienta en vez de otras herramientas como DADA2 (Callahan, 2016) o Qiime2 (Bolyen *et al.*, 2019), debido a que PIPITS está diseñado específicamente para el análisis de secuencias de genes ribosomales como el ITS (Internal Transcribed Spacer), que se utiliza comúnmente en la identificación de hongos. Artículos como el de Anslan y colaboradores (2018) que comparan diferentes herramientas, muestran que PIPITS tiene mejor performance que Qiime2, Galaxy y Dada2 para agrupar y clasificar hongos. En la figura 5 se puede observar el flujo de trabajo de PIPITS, así como las paqueterías que usa en cada etapa.

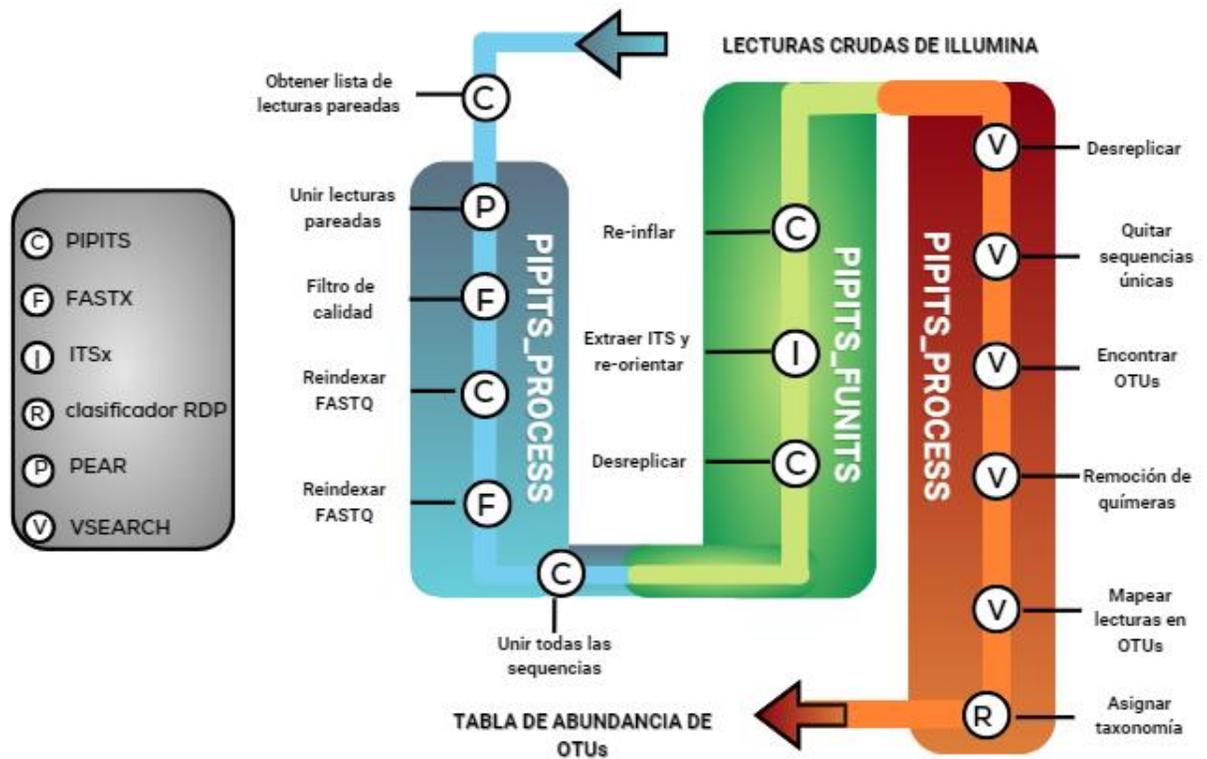


Figura 5. Flujo de trabajo de PIPITS indicando las paqueterías usadas en cada etapa. Modificado de Gweon *et al.*, 2015.

Instalación y prueba preliminar

Para la instalación de PIPITS y sus dependencias, se optó por utilizar un entorno conda en una máquina virtual con sistema operativo Linux. Cabe mencionar que PIPITS es exclusivamente compatible con Python 3, por lo que se especificó la versión "python=3.6" al momento de crear el entorno. Para verificar el funcionamiento correcto de PIPITS, se procedió a realizar una prueba utilizando un conjunto de datos de prueba de tamaño reducido.

Preparación de secuencias

Las secuencias generadas por Illumina se proporcionaron como archivos FASTQ demultiplexados, donde cada archivo contiene las secuencias correspondientes a un código de barras específico. Para preparar las secuencias antes de su análisis con PIPITS, se utilizó el script PISPINO (Pipits SPIN-Off tools) desarrollado por H. Soon Gweon como complemento a PIPITS (Gweon *et al.*, 2015).

A partir de las secuencias crudas, se generó un archivo de texto con los nombres de los archivos y los identificadores de muestra para cada par de secuencias. Antes de ejecutar este comando, se verificó que los datos crudos estuvieran sin comprimir. Además, se verificó que los identificadores de muestra deseados estuvieran correctamente listados en el archivo resultante ("readpairslist.txt") sin duplicados. Una vez obtenido el archivo de lista ("readpairslist.txt"), se procedió a preparar las secuencias. Durante este proceso, las secuencias se unieron examinando las regiones de superposición, luego se filtraron por calidad (>Q30) y se etiquetaron con un número de índice seguido del identificador de muestra correspondiente. Finalmente, los archivos resultantes se convirtieron a formato FASTA y se fusionaron en un único archivo.

Extracción de la región ITS fúngica

La salida obtenida en la etapa anterior se utilizó como entrada para esta etapa. Además, se especificó la extracción de una subregión ITS específica, correspondiente a los cebadores, en este caso ITS1-F y ITS-2R de Illumina. Durante este proceso, se utilizó la herramienta ITSx (Bengtsson-Palme *et al.*, 2013) para extraer la subregión seleccionada y, en caso necesario, reorientar las secuencias en dirección de 5' a 3'. El paquete ITSx utiliza HMMER3 (Finn *et al.*, 2011) para comparar las secuencias de entrada con un conjunto de modelos construidos a partir de diferentes subregiones ITS encontradas en diversos organismos.

Procesamiento de secuencias

En esta etapa final de PIPITS se lleva a cabo el agrupamiento de secuencias y la asignación taxonómica. Durante el proceso de procesamiento de secuencias en PIPITS, se llevaron a cabo las siguientes acciones. En primer lugar, se realizó la eliminación de las secuencias duplicadas presentes en el conjunto de datos. Luego, se procedió a eliminar las secuencias cortas, es decir, aquellas que tenían una longitud inferior a 100 pares de bases (pb), así como las secuencias únicas (singleton), que eran aquellas secuencias que no tenían duplicados en el conjunto de datos. A continuación, se llevó a cabo el agrupamiento de secuencias con un 97% de identidad de secuencia, las

cuales se agruparon juntas en una misma unidad taxonómica operativa (OTU). Se optó por este método siguiendo el artículo de Tedersoo y colaboradores (2022), quienes sostienen que este enfoque ha demostrado ser más efectivo en la recuperación de la diversidad fúngica.

Después, se realizó la detección y eliminación de quimeras en las secuencias representativas obtenidas. Posteriormente, se llevó a cabo el mapeo de las secuencias de entrada en las secuencias representativas libres de quimeras con un 97% de identidad de secuencia. Esto implicó asignar cada secuencia de entrada a la secuencia representativa más cercana, lo que permitió establecer la correspondencia entre las secuencias originales y las secuencias representativas utilizadas en el análisis.

Asignación taxonómica

La asignación taxonómica de las secuencias representativas se realizó utilizando RDP Classifier (Wang *et al.*, 2007), el cual es un clasificador bayesiano, utilizando el conjunto de datos de referencia UNITE 9.0. Esto permitió asignar una clasificación taxonómica a cada secuencia representativa basada en similitudes con secuencias de referencia previamente clasificadas con un umbral de confianza del 85% (Gweon *et al.*, 2015).

FUNGuild

Se utilizó FUNGuild para analizar taxonómicamente los OTUs fúngicas por gremio ecológico. Esta es una herramienta basada en Python que incluye información sobre la morfología del crecimiento, además de la información de gremios (Nguyen *et al.*, 2016).

Dentro de los tres modos tróficos planteados anteriormente es decir patotrófos, simbioses y saprotrofos, la base de datos FUNGuild tiene designadas un total de 12 categorías referidas como gremios, que son en orden alfabético: patógenos animales, hongos micorrízicos arbusculares, hongos micorrízicos ectomicorrízicos, hongos micorrízicos ericoides, endofitos foliares, hongos liquenícolas, hongos liquenizados, micoparásitos, patógenos de plantas, endofitos radiculares no definidos, saprotrofos

no definidos y saprotrofos de madera. La base de datos también incluye información sobre la morfología de crecimiento (Nguyen *et al.*, 2016).

Para realizar los gráficos se utilizó el programa R versión 4.2.1. Se usaron las siguientes librerías: ggplot2 (Wickham, 2016), phyloseq (McMurdie & Holmes, 2013), metagMisc (Mikryukov, 2020), metagenomeSeq (Paulson *et al.*, 2013), magrittr (Bache & Wickham, 2014), Polychrome (Coombes *et al.*, 2018), microbiome (Lahti *et al.*, 2017) y microbiomeutilities (Shetty y Lahti, 2020).

RESULTADOS

Secuenciación

Se secuenciaron 38 muestras de tejido de coral, pertenecientes a colonias de *Siderastrea siderea*, *Orbicella faveolata* y *Montastrea cavernosa*. Se obtuvieron 657 710 lecturas crudas, de las cuales 424 033 fueron pareadas. Después de la etapa de filtrado, quedaron 420 546 lecturas preparadas para analizar. Del total de lecturas, 392 fueron asociadas al reino Fungi, es decir aproximadamente 0.09% de las secuencias filtradas. Después del proceso de clusterización en OTUs, se obtuvieron 223 OTUS, de las cuales 23 fueron asignadas al reino Fungi, cómo se puede ver en la tabla 3. El resto de OTUs fueron asignadas al reino Metazoa, phylum Cnidaria, siendo la mayoría de las lecturas identificadas cómo *S.siderea* y *M. cavernosa* y *O. faveolata*, aunque también se encontraron OTUs pertenecientes al phylum Porifera. En 17 muestras no se encontraron secuencias asociadas a hongos. Después del proceso de filtración, se obtuvieron secuencias asociadas a hongos en 6 muestras de *M. cavernosa*, 6 muestras de *O. faveolata* y 10 muestras de *S. siderea*.

Listado taxonómico

En el Anexo 1, se presenta un listado taxonómico de las 23 OTUs encontradas del reino Fungi. De las 23 OTUs encontradas, 3 no se pudieron asignar más allá del reino, 11 pertenecen al phylum Basidiomycota y 9 al phylum Ascomycota. El género *Malassezia* se repitió en 9 OTUs. Por otro lado, 3 OTUs fueron identificadas cómo parte del género

Aspergillus, 2 OTUs como parte del género Cladosporium, 1 OTUs del género Penicillium 1 OTU del género Ascotricha, 1 OTU del género Dirina, 1 OTU del género Nigrospora y 1 OTU del género Trichosporon. En total se encontraron 8 géneros distintos: Malassezia, Aspergillus, Penicillium, Nigrospora, Trichosporon, Dirina, Ascotricha y Cladosporium. Se lograron identificar cinco OTUs hasta el nivel de especie, fueron: *Malassezia restricta*, *Malassezia globosa*, *Dirina paradoxa*, *Cladosporium dominicanum* y *Cladosporium sphaerospermum*.

Se encontraron tres clases de hongos de la división Basidiomycota, es decir Malasseziomycetes, Agaricomycetes y Tremellomycetes, mientras que Aspergillus, Penicillium, Nigrospora, Ascotricha, Dirina y Cladosporium son todos parte de la división Ascomycota. Ascotricha y Nigrospora son dos géneros de hongos que pertenecen a la misma clase, conocida como Sordariomycetes.

Número de lecturas por muestra

Debido a la baja cantidad de lecturas en varias muestras y a la disparidad de las muestras, se optó por no normalizar los resultados y presentar el número crudo de lecturas por muestra. En la figura 6, se puede observar el número de lecturas encontradas en las muestras de *M. cavernosa*, así como los géneros a las cuales están asociadas.

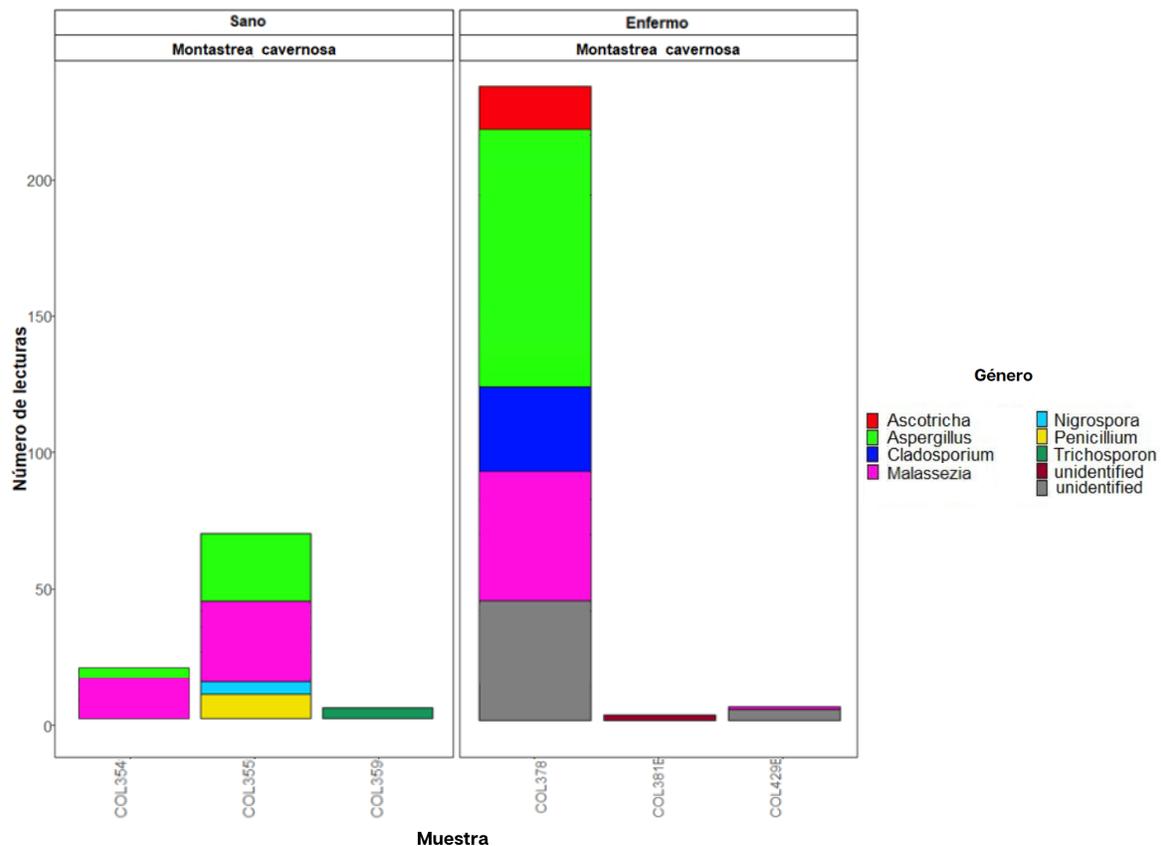


Figura 6. Número de lecturas por género de hongos en muestras de *M.cavernosa* aparentemente sanas y enfermas con SCTL D.

El número de lecturas mínimo fue 1 y el número de lecturas máximo fue de 232 lecturas y corresponde a una colonia de *M. cavernosa* afectada por SCTL D. Se observa en la figura 6 que los géneros de hongos presentes tanto en muestras de apariencia sana como en muestras enfermas son *Aspergillus* y *Malassezia*. Sin embargo, en las muestras sanas, la mayoría de las lecturas corresponden a *Malassezia*, mientras que en las muestras enfermas se observa una predominancia de lecturas de *Aspergillus*.

Si bien la mayoría de las lecturas de la COL378 están asociadas al género *Aspergillus*, también destaca la presencia de *Cladosporium*. También se observan casi 50 lecturas a las cuales no se les pudo asignar ningún rango taxonómico después del reino. En total en las muestras aparentemente sanas se encontraron los siguientes géneros: *Malassezia*, *Aspergillus*, *Nigrospora*, *Penicillium* y *Trichosporon*. En las muestras con lesiones de SCTLD se encontraron los siguientes géneros: *Aspergillus*, *Malassezia*, *Ascotricha* y *Cladosporium*.

En la figura 7, se pueden observar el número de lecturas asociadas a ejemplares aparentemente sanos y con lesiones de SCTLD de *S. siderea* según el género de hongo. Lo primero que se observa es que el número de lecturas es varias veces menor que en las muestras de *M. cavernosa*, ya que el número mínimo de lecturas fue 1 y el máximo 8. En las muestras enfermas, se encontraron lecturas asociadas al género *Dirina* en 5 de las 6 muestras enfermas. También se encontró al género *Dirina* en un ejemplar sano de *S. siderea*. En cambio en los 4 ejemplares aparentemente sanos, se encontraron lecturas del género *Malassezia*, así como del género *Cladosporium*. En un ejemplar enfermo, también se encontraron lecturas asociadas al género *Malassezia*.

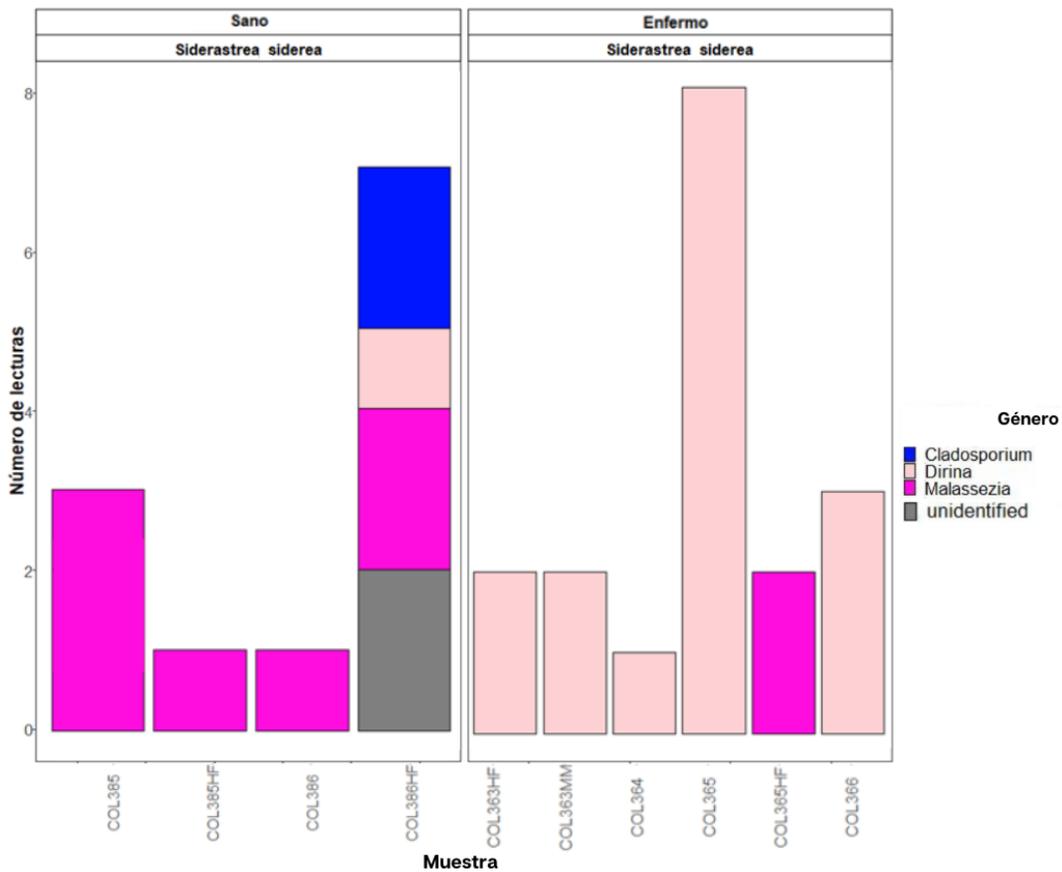


Figura 7. Número de lecturas según el género de hongo en muestras de *M.cavernosa* aparentemente sanas y enfermas con SCTLD.

En la figura 8, se pueden observar las lecturas asociadas a las muestras de *O. faveolata*. Se observa que también hay un bajo número de lecturas, es decir que ninguna muestra tiene más de 10 lecturas, y por otro lado, también se observa que todas las lecturas, tanto en ejemplares afectados y aparentemente sanos son del género *Malassezia*. En los ejemplares con lesiones se encontraron también algunas lecturas que no se pudieron identificar a nivel de phylum.

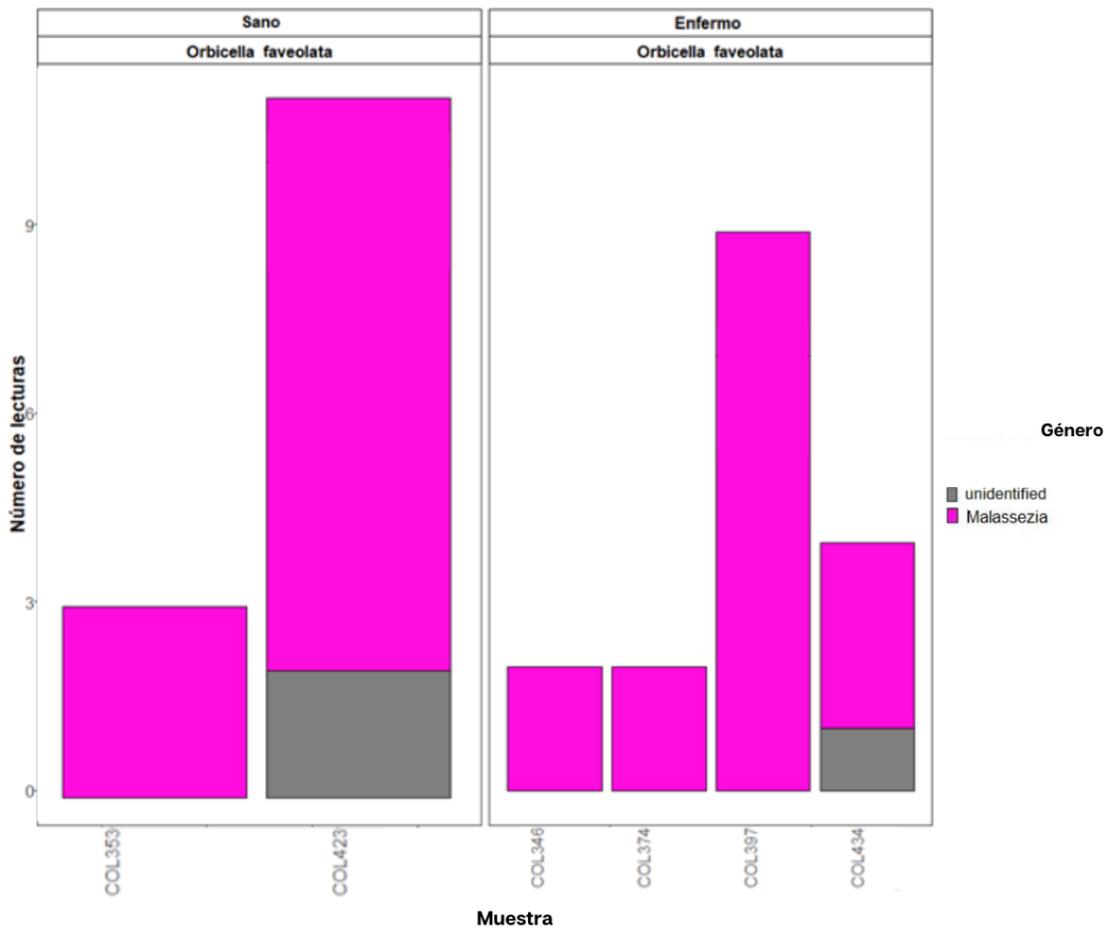


Figura 8. Número de lecturas asociadas a las muestras de *O. faveolata* según el género de hongo.

En la COL423, no se pudo llegar al nivel de género, pero las lecturas sin identificar son de la clase Agaricomycetes.

En la figura 9 se pueden observar los géneros asociados a las muestras aparentemente sanas de las tres especies de coral. La especie *M. cavernosa* es la que presenta la mayor riqueza, con 5 géneros de hongos. El género *Malassezia* es el único común a todas las especies de coral ya que se encuentra en 8 de las 9 muestras aparentemente sanas. *Cladosporium* y *Dirina* fueron exclusivamente encontrados en *S.sidere*, mientras que *Aspergillus*, *Nigrospora*, *Penicillium* y *Trichosporon*, únicamente encontrados en *M. cavernosa*.

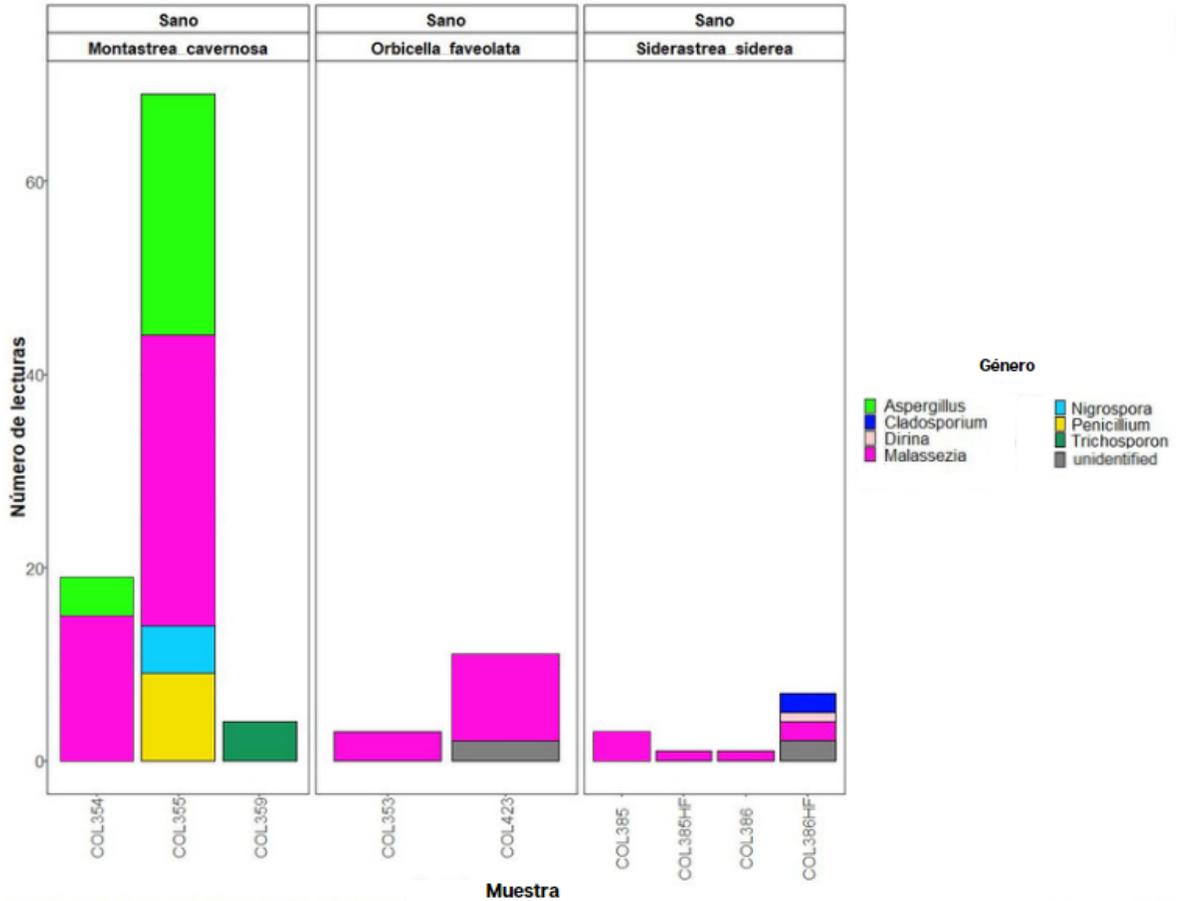


Figura 9. Número de lecturas asociadas a las muestras de las 3 especies de coral aparentemente sanas según el género de hongo.

En la figura 10 se observa el número de lecturas según el género de hongo al cual están asociados en las muestras que presentaron lesiones de SCTLD. El único género común a las tres especies de coral es *Malassezia*, teniendo mayor prevalencia en las muestras de *O.faveolata*. Los géneros de hongos distintivos de *M.cavernosa* fueron *Ascotricha*, *Aspergillus* y *Cladosporium*. Por otro lado, en los ejemplares de *S. siderea*, en 5 de las 6 muestras se encontraron lecturas de *Dirina*.

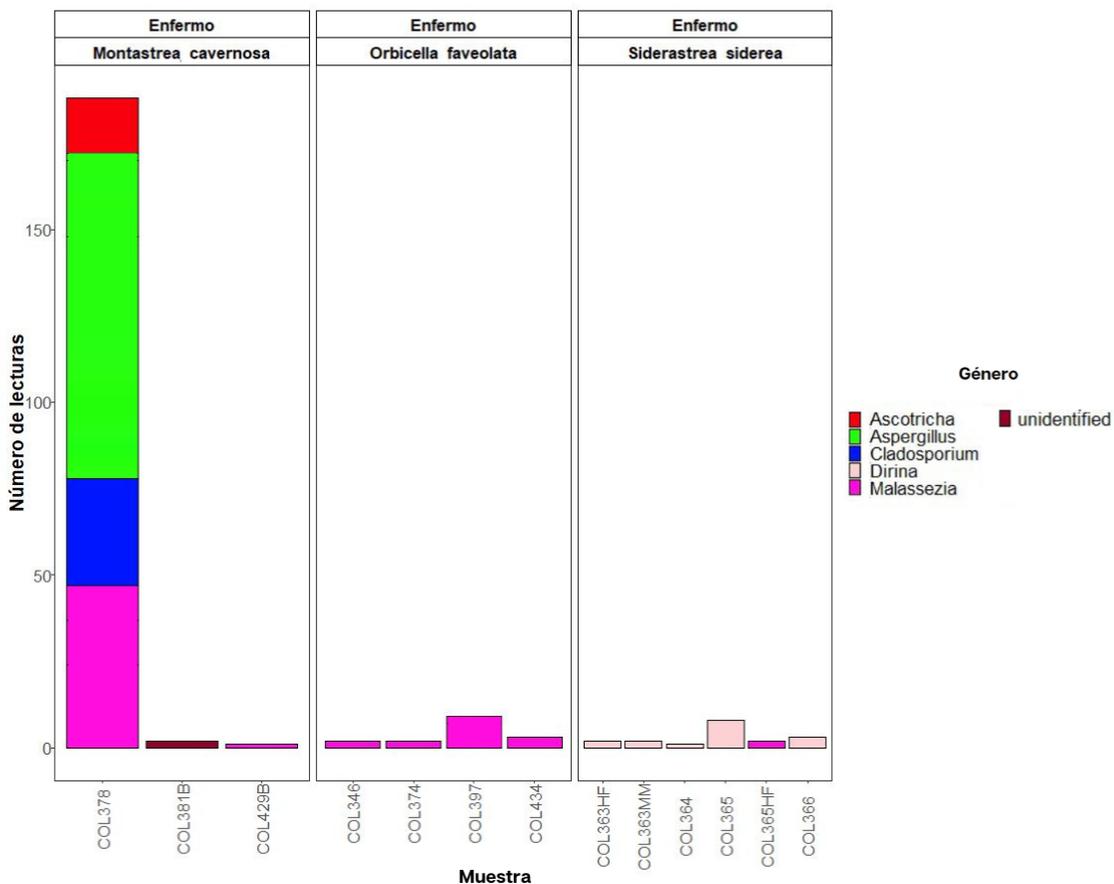


Figura 10. Número de lecturas asociadas a las muestras de las 3 especies enfermas según el género de hongo.

Debido a que 9 de las 23 OTUs encontradas pertenecieron al género *Malassezia* en este estudio, se analizó la distribución de las OTUs correspondientes a este género en las muestras, cómo se observa en la figura 11.

Dos de esas OTUs fueron identificadas cómo pertenecientes a la especie *Malassezia restricta* y *M. globosa*. Debido a que en el resto de las OTUs no se logró identificar hasta nivel de especie, se presenta en la figura 11 con el número de OTU.

M. cavernosa presentó mayor riqueza del género *Malassezia*, ya que las muestras aparentemente sanas presentan 5 OTUs y las muestras afectadas presentan 4 OTUs. Por otro lado, las muestras de *S. siderea*, a pesar de tener un bajo número de lecturas de *Malassezia*, presentaron 4 OTUs diferentes en las sanas y 2 OTUs diferentes en las

muestras afectadas. En cuanto a las muestras de *O. faveolata*, presentaron 3 OTUs en las muestras afectadas y 3 OTUs en las muestras aparentemente sanas.

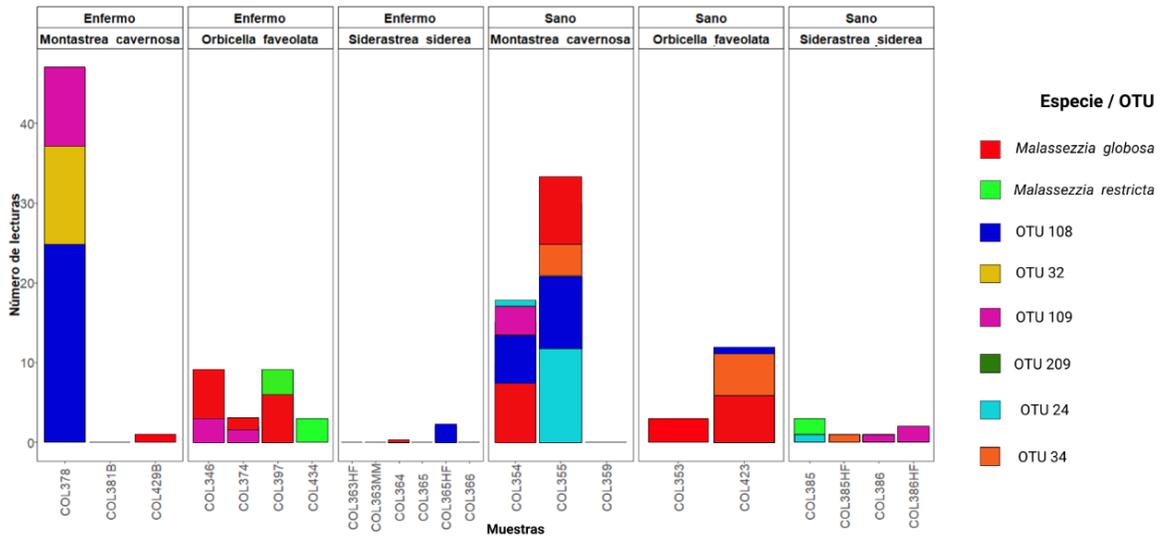


Figura 11. Número de lecturas asociadas a las muestras de coral exclusivamente del género *Malassezia*.

Se observó que el mayor número de lecturas de *Malassezia* pertenecen a la OTU 108 seguido de *Malassezia globosa*. Algunas OTUs como la 109, 108 y *Malassezia globosa* se encuentran en todas las especies, sin embargo, no es el caso de todas. La especie *Malassezia restricta* fue encontrada únicamente en muestras de *O. faveolata* enferma y de *S. siderea* aparentemente sanas.

Análisis de Gremios

En la tabla 4 se pueden ver los Gremios funcionales en base a la tabla OTU y la tabla de taxonomía generada en PIPITS que se generó a partir de las bases de datos de FunGuild. Las especies que no fueron reconocidas por FunGuild, fueron buscadas en la base de datos de FungalTraits.

Tabla 3. Gremios funcionales de los taxones encontrados

Taxón	Modo trófico	Gremio	Crecimiento	Base de datos	Referencia
<i>Malassezia restricta</i>	Patótrofo-Saprotrófo	Patógeno de animales	Levadura facultativa	FunGuild	(Kurtzman <i>et al.</i> , 2011)
<i>Dirina paradoxa</i>	Simbiotrófo	Hongo líquenizado	Talo	FunGuild	(Esslinger <i>et al.</i> , 2012)
Ascotricha sp.	Saprotrófo	Saprotrófo indefinido	Talo	FunGuild	(Tedersoo L, <i>et al.</i> 2014.)
<i>Malassezia malassezia</i>	Patótrofo-Saprotrófo	Patógeno de animales	Levadura facultativa	FunGuild	(Kurtzman <i>et al.</i> , 2011)
Nigrospora sp.	Saprotrófo	Saprotrófo indefinido	Talo	FunGuild	(Tedersoo L, <i>et al.</i> 2014.)
Cladosporium	Patótrofo-Saprotrófo-Simbiótrofo	Patógeno animal-Endófito-Liquen-Fito patógeno-Saprotrófo	Talo	FunGuild	(Seehan <i>et al.</i> ,1975)
Aspergillus	Patótrofo-Saprotrófo	Patógeno de animales y plantas-Saprotrófo	Talo	FunGuild	(Watkinson <i>et al.</i> , 2016)
Trichosporon	Patótrofo-Saprotrófo	Patógeno de animales-Saprotrófo	Talo	FungalTraits	(Tapia, 2009)
Penicillium	Patótrofo-Saprotrófo	Patógeno de animales y plantas-Saprotrófo	Talo	FungalTraits	(Watkinson <i>et al.</i> , 2016)

En la figura 12, se observan los gremios funcionales de hongos asociados a las tres especies de coral en colonias aparentemente sanas y enfermas. Las categorías de gremios que se encontraron fueron: 1) Patógeno de animales, 2) Patógeno de animales/ Saprotrófo, 3) Saprótrofo, 4) Hongo líquenizado. Se utilizó el número de lecturas (n) asociados al conjunto de muestras, omitiendo las lecturas que no se pudieron identificar hasta el nivel de género.

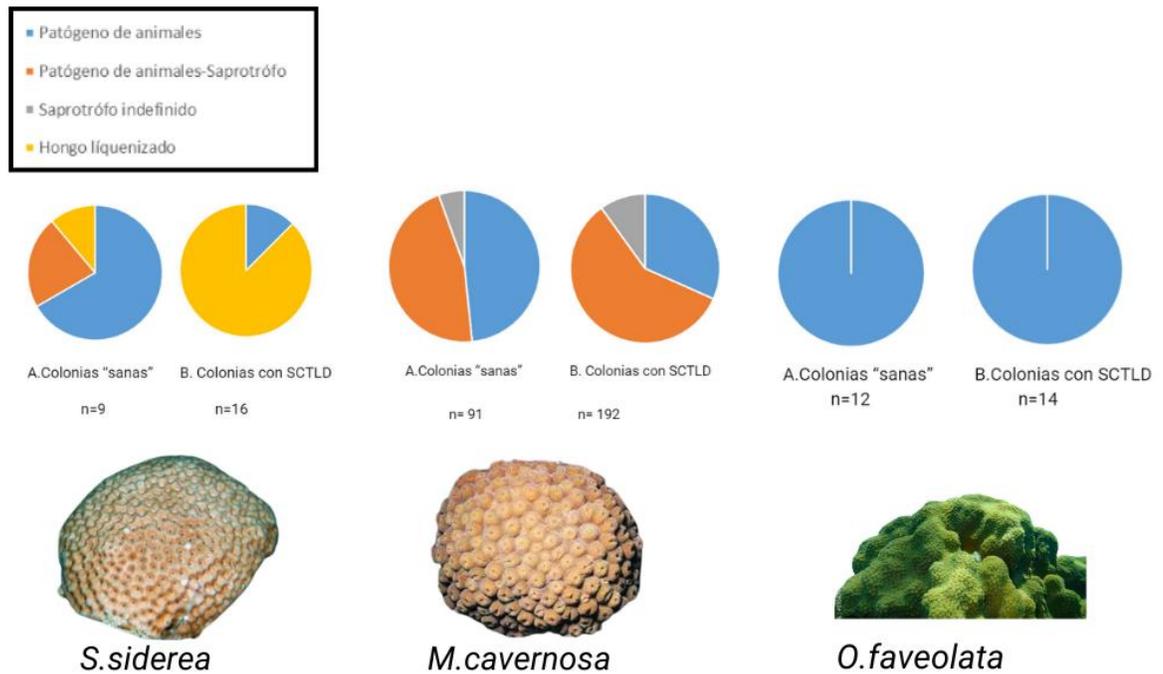


Figura 12. Gremios de hongos en colonias aparentemente sanas y enfermas de *S. siderea*, *M. cavernosa* y *O. faveolata*.

En las colonias aparentemente sanas de *S. siderea*, la mayoría de las lecturas están asociadas a patógenos de animales, seguido de la categoría "patógeno de animales/saprotrófo" y por último, una pequeña proporción de las lecturas está asociada a hongos líquenizados. En el caso de las colonias con SCTL, vemos que la mayoría de las lecturas están asociadas a hongos líquenizados y una pequeña proporción corresponde a patógenos de animales.

En el caso de las colonias aparentemente sanas de *M. cavernosa*, se observa una proporción similar de hongos patógenos de animales y de hongos patógenos que pueden fluctuar a un modo de vida saprotrófo. También se observa un pequeño porcentaje de hongos puramente saprotrófos. En las colonias con SCTL, se observa un mayor porcentaje de los hongos que pueden fluctuar entre los gremios de patógeno y saprotrófos.

En la especie *O. faveolata*, se observa que tanto cómo en el caso de las colonias aparentemente sanas cómo las colonias con SCTLD, la totalidad de las lecturas encontradas corresponde a hongos patógenos de animales. En general se observa que todas las especies, en cualquier estado de salud, presentan hongos patógenos de animales, por lo cual es la única categoría de gremio que está presente en todas las muestras.

DISCUSIÓN

A partir de la secuenciación de la región ITS de muestras aparentemente sanas y enfermas de tres especies de coral en el Caribe mexicano, se identificaron 23 OTUs correspondientes a 8 géneros de hongos en diferentes proporciones. En la siguiente sección, se analizarán los resultados obtenidos, iniciando con las limitantes técnicas, seguido de una comparación de los géneros de hongos encontrados en el estudio de Florida y los encontrados en este estudio. Luego, se hará un análisis de la composición de las comunidades fúngicas por especie de coral, seguido de una descripción de las familias de hongos encontrados y por último un análisis de los gremios de los hongos asociados a los corales *M.cavernosa*, *S.siderastrea* y *O.faveolata*.

Si bien se obtuvieron 420 546 lecturas filtradas de la región ITS, únicamente 392 fueron asociadas al reino Fungi, es decir aproximadamente 0.09% de las secuencias filtradas. La mayoría de las lecturas pertenecieron a los corales hospederos. A pesar de que los cebadores ITS1 e ITS2 son reconocidos como marcadores moleculares universales para hongos (Nikolcheva y Bärlocher, 2004), es notable que, en la taxonomía de las secuencias obtenidas, la gran mayoría de las lecturas pertenecen al reino Metazoa. Esto se debe a que la región ITS es común a todos los eucariotas.

Cabe mencionar que este desafío no es exclusivo de nuestra investigación, ya que varios estudios previos sobre hongos de coral han enfrentado la problemática de contar con un alto número de lecturas asociadas a los hospederos y todavía no hay un consenso en la estandarización de los métodos de extracción y filtración del ADN de corales.

Un estudio del 2018 que examinó la diversidad microbiana de *S. siderea* informó que se obtuvo una cantidad relativamente elevada de secuencias ITS2 correspondientes a otros eucariotas. Únicamente el 22.2% de las 790,398 secuencias ITS2 de calidad filtradas fueron identificadas como hongos. Del total de secuencias, el 17% se asoció con Cnidaria, mientras que el resto correspondió a otros eucariotas (Bonthond *et al.*, 2022).

En el presente estudio, se observó que la proporción de lecturas atribuidas a hongos es relativamente baja, representando aproximadamente el 0.09% del total de lecturas obtenidas. Esta reducida proporción podría ser atribuible a los procedimientos de extracción empleados, dado que la presencia de la pared celular de quitina en los hongos puede obstaculizar la lisis celular y la eficacia de la extracción de ADN. La presencia de quitina puede requerir la utilización de enzimas específicas o métodos de lisis más vigorosos para garantizar la liberación óptima del ADN fúngico. Una revisión sistemática sobre la microbiota fúngica de los corales también señala como uno de los retos futuros la optimización de los métodos para la separación eficiente del ADN del hospedero (Roik *et al.*, 2022). Este aspecto subraya la importancia de estandarizar los procedimientos, incluyendo la extracción de ADN, con el propósito de incrementar la cantidad de datos obtenidos en futuras investigaciones. En consecuencia, sería recomendable en estudios posteriores evaluar y proponer enfoques de extracción de ADN más efectivos y específicamente adaptados para las comunidades fúngicas que residen en los corales.

Comparación de las especies de hongos en corales reportadas en el Caribe y en Florida

En este estudio, la especie *Malassezia restricta* fue asociada a ejemplares sanos de *S. siderea* y a ejemplares enfermos de *O. faveolata*. Este género fue reportado con anterioridad en un estudio de Florida (Salerno y Peters, 2020) donde se encontraron altas abundancias de la especie *Malassezia restricta* en ejemplares sanos del coral *Colpophyllia natans*. La identificación recurrente del género *Malassezia* en especímenes sanos de corales tanto en estudios previos en Florida como en el

presente estudio realizado en el Caribe mexicano, sugiere una posible correlación entre la presencia de *Malassezia* y la salud de los corales. No obstante, para comprender plenamente la dinámica de esta asociación y su influencia en la resistencia de los corales a la SCTLD, se requiere de investigaciones adicionales. Por otro lado, el estudio de Florida antes mencionado, reportó además hongos del género *Cladosporium* en muestras enfermas de SCTLD de *Colpophyllia natans* (Salerno y Peters, 2020). En este trabajo, al igual detectamos la presencia de *Cladosporium* en una muestra enfermas de *M. cavernosa* y en una muestra aparentemente sana de *S. siderea*. El género *Cladosporium* ha sido reportado en corales hermatípicos (Xu *et al.*, 2018), sin embargo, su posible rol en la afectación de la SCTLD no está dilucidado.

Composición de las comunidades fúngicas por especie de coral

Cómo consideraciones generales, se observó una baja riqueza de hongos asociados a las especies de coral estudiadas. La especie de coral que presentó más riqueza de hongos fue *M.cavernosa*, y la que menor riqueza presentó fue *O.faveolata*. El único género de hongo que se encontró en los tres corales, independientemente del estado de salud fue *Malassezia*. Este mismo hongo fue el que registro mayor riqueza, ya que 9 de las 23 OTUs encontradas son de este género. Se pudieron identificar dos especies, *Malassezia restricta* y *Malassezia globosa*.

M. cavernosa

La especie *M. cavernosa* concentra la mayoría de las lecturas totales asociadas a hongos. El número de lecturas asociadas a hongos es mucho mayor en la muestra 378, de una colonia enferma. Esto parece ser coherente con las observaciones de Amend *et al.* (2012) y Roik *et al.*, (2022) quienes plantean que el estrés ambiental, enfermedades o eventos de blanqueamiento de corales pueden aumentar la proliferación de hongos asociados al coral. Sin embargo, en las otras dos muestras enfermas de *M. cavernosa* se observan muy pocas lecturas y son de hongos sin identificar. Las muestras enfermas tienen una mayoría de lecturas asociadas al phylum Ascomycota, las cuales en su mayoría son del género *Aspergillus*, seguido por

Cladosporium y *Ascotricha*. En cuanto a las muestras sanas, hay mayor abundancia del género *Malassezia*, aunque también se identificó en muestras sanas. Es notable que esta especie de coral, descrita como altamente susceptible a la SCTLD (Brandt *et al.*, 2021) haya presentado cambios notables en su composición de hongos y que haya empezado a haber más presencia de hongos saprótrofos en las muestras afectadas, ya que eso es coherente con el proceso de pérdida de tejido del coral que favorece la colonización por parte de los hongos descomponedores (Roik *et al.*, 2023).

S. siderea

En el caso de *S. siderea*, en las colonias sanas se encontraron las OTUs 109, 34 y 24, correspondientes al género *Malassezia*, así como la especie *Malassezia restricta*. En una muestra afectada por la SCTLD, se encontró la OTU 108, correspondiente a *Malassezia* así como la especie *Malassezia globosa*, mientras que en 5 de las 6 colonias de esta especie afectadas, se encontraron lecturas pertenecientes a la especie *Dirina paradoxa*, el cual es un hongo líquenizado. La especie *S. siderea* se considera una de las más adaptables en los arrecifes del Caribe, ya que es relativamente resistente a varios factores de estrés ambiental (Castillo *et al.*, 2014) y posee altas tasas de recuperación después de eventos de blanqueamiento importantes (Banks & Foster, 2017). Algunos estudios han planteado que la susceptibilidad de *S. siderea* a la SCTLD es relativamente baja comparada con otras especies (Brandt *et al.*, 2021). El descubrimiento del hongo líquenizado *Dirina paradoxa* en asociación con *S. siderea* sugiere que algunas algas holobiontes del coral podrían establecer asociaciones simbióticas con hongos que pudieran favorecerles en situaciones de estrés ambiental. Esta observación plantea preguntas sobre la posible contribución de los hongos líquenizados a la resistencia y adaptabilidad de los corales frente a amenazas ambientales.

O. faveolata

En las muestras de *O. faveolata*, se obtuvo el menor número de lecturas y de especies encontradas, ya que únicamente se identificaron lecturas asociadas a *Malassezia*. En

las muestras afectadas se encontró la OTU 109, así como *Malassezia globosa* y *Malassezia restricta*. En el caso de las muestras aparentemente sanas, se identificó *Malassezia globosa*, la OTU 34 y la OTU 108. Se observa que hay mayor riqueza de OTUs de *Malassezia* en las muestras aparentemente sanas de corales que en las muestras afectadas. Algunos estudios han determinado que *O. faveolata* es medianamente susceptible a la SCTL (Meiling et al., 2021; Brandt et al., 2021) y en este estudio no se pudieron identificar cambios en las comunidades fúngicas a nivel de género.

Grupos de hongos

En el siguiente apartado, se hará una revisión de las familias de hongos a los cuales pertenecen los géneros de hongos que se reportan en este estudio. Para cada familia, se mencionará si ya la hemos encontrado reportada en corales.

Phylum Basidiomycota

Familia Malasseziaceae

En este estudio, la familia Malasseziaceae fue la única encontrada perteneciente al phylum Basidiomycota. Es notable que el género *Malassezia* fue el único género detectado en las tres especies de coral, en los dos estados de salud. Por otro lado, fue el segundo género con más lecturas, con 80 lecturas de 329, después de *Aspergillus*. Hay que notar que de las 23 OTUs encontradas en este estudio, 9 pertenecen al género *Malassezia*. Dos de esas OTUs fueron identificadas como *Malassezia restricta*, mientras que una tercera fue identificada como *Malassezia globosa*.

Malassezia es el único género del orden Malasseziales, subphylum Malasseziomycetes, descrito por primera vez por Baillon en 1998 (Boekhout et al., 2022). Su taxonomía ha sido un tema de debate ya que estos organismos son dímorficos, pudiendo existir en fases de levadura o micelio, dependiendo de las condiciones, sin embargo, son mucho más comunes en forma de levadura (Boekhout et al., 2022). Las levaduras lipofílicas del género *Malassezia* han sido reconocidas como residentes comunes en la microbiota epidérmica humana. Una característica de

las especies de *Malassezia* es su ruta metabólica de síntesis de ácidos grasos ya que está incompleta. Estos hongos deben usar en su lugar una serie de biocompuestos como lipasas extracelulares, fosfolipasas y esfingomielinasa ácidas (Saunte *et al.*, 2020). El hecho de que estos hongos sean lipofílicos podría indicar que se encuentran en el mucus del coral, ya que es un medio que tiene una gran cantidad de lípidos (Rohwer *et al.*, 2002).

Si bien el género *Malassezia* ha sido reconocido como residente común en la microbiota epidérmica humana, su papel patogénico sigue siendo objeto de controversia, ya que parece que las levaduras *Malassezia* están implicadas en la patogénesis de varias afecciones dermatológicas, incluyendo la pitiriasis versicolor, la foliculitis y la dermatitis seborreica, a pesar de estar de que las levaduras también se encuentren presentes en personas sanas y tanto los individuos inmunocompetentes como los inmunosuprimidos pueden presentar infecciones de este tipo. Las especies *M. restricta* y *M. globosa* son algunas de las más encontradas en la piel humana (Prohic *et al.*, 2016).

Dada la frecuente presencia de este género fúngico en la epidermis humana, surge la interrogante sobre la posible influencia de la contaminación en su detección. Sin embargo, varios estudios respaldan la evidencia de los linajes marinos de *Malassezia* (Amend, 2014). Estudios en sedimentos marinos profundos mostraron una alta proporción de secuencias similares a *Malassezia*, con diferencias genéticas significativas respecto a organismos asociados a mamíferos, descartando la posibilidad de que se trate de contaminación (Edgecomb *et al.*, 2011). Investigaciones en hábitats de coral revelaron la presencia de genes asociados a *Malassezia*, respaldando su actividad metabólica subacuática (Amend *et al.*, 2012). Además, la ubicuidad de *Malassezia* en ubicaciones marinas remotas refuerza la idea de su autenticidad como residentes marinos, descartando la hipótesis de contaminación terrestre (Amend, 2014).

La primera vez que el género *Malassezia* se reportó en corales fue la especie *Malassezia globosa* en ejemplares de coral *Acroporus hyacinthus* en la isla Ofu en Samoa (Amend *et al.*, 2012). En una investigación del 2022, se comparó entre corales sanos y corales blanqueados, se encontró que la abundancia de *Malassezia* aumentaba en cuatro géneros de coral *Acropora*, *Platygyra*, *Porites* y *Pocillopora* cuando se trataba de los ejemplares blanqueados versus los que estaban sanos (Chavanich *et al.*, 2022). En el presente estudio, si bien en número de lecturas, hay mayor número de lecturas de *Malassezia* en el ejemplar enfermo de *M.cavernosa* que en los dos ejemplares sanos, es notable que en proporción, forman una mayor proporción del total de hongos encontrados en las dos colonias sanas. Es notable que este género de hongos ha sido también reportado en esponjas (Gao *et al.*, 2008).

La tremenda diversidad de hábitats en los que se ha reportado el género *Malassezia* sugiere que las especies marinas de este grupo pueden adoptar un espectro de estrategias tróficas que van desde la saprófagia hasta la biotrofia (Amend, 2014). Los organismos similares a *Malassezia* que residen en corales y esponjas aparentemente saludables podrían relacionarse fluctuando en un espectro de comensales, ya sea cómo patógenos latentes a la espera de la supresión del sistema inmunológico del huésped, cómo saprobios oportunistas o ambas cosas, dependiendo del contexto del huésped y del ambiente (Amend *et al.*, 2019).

Se destaca que, en este estudio, las muestras de corales aparentemente sanos obtuvieron mayor número de OTUs diferentes de *Malassezia*. Esta observación plantea la posibilidad de que la diversidad de especies de *Malassezia* en el hospedero pueda servir como un indicador de su estado de salud.

Familia Trichosporonaceae

La familia de hongos basidiomicetos Trichosporonaceae pertenece al orden Trichosporonales, la clase Tremellomycetes y el subfilo Agaricomycotina, e incluye levaduras que son morfológica y fisiológicamente diversas. Algunas especies de esta familia poseen la capacidad de acumular grandes cantidades de aceites oleaginosos

en células individuales, lo cual las hace organismos biotecnológicamente interesantes (Aliyu *et al.*, 2020). En este estudio se encontró el género *Trichosporon* únicamente en una muestra de *M.cavernosa* aparentemente sana.

El género *Trichosporon* ha sido documentado en investigaciones previas relacionadas con los corales pétreos en el Mar del Sur de China (Xu *et al.*, 2018), así como en un estudio adicional que abordó corales de la especie *Acropora intermedia*, los cuales presentaban un estado de blanqueamiento parcial, también en el Mar del Sur de China (Chen *et al.*, 2024). También ha sido reportado en arena cerca del archipiélago de Truong Sa en Vietnam (Do Hong *et al.*, 2023).

Phylum Ascomycota

Familia Cladosporiaceae

La familia *Cladosporium* (antes *Davidiellaceae*) pertenece al Orden *Capnodiales*. Fue la única familia que se encontró representante de la clase *Dothideomycetes*, la cual ha sido reportada en varios estudios de micología coralina (Amend *et al.*, 2012, Bonthond *et al.*, 2018 en Roik *et al.*, 2022). Se encontró únicamente en una muestra de *M. cavernosa* afectada por la SCTL D.

Se identificaron dos OTUs correspondientes a hongos del género *Cladosporium*. En el caso del OTU 93, la identificación se limitó al nivel de género, mientras que para el OTU 89, se identificó la especie *Cladosporium sphaerospermum*.

Cladosporium es un género muy heterogéneo y diverso ya que tiene más de 722 especies (Dugan *et al.*, 2004). Las especies de *Cladosporium* tienen una distribución cosmopolita y se encuentran comúnmente en todo tipo de restos vegetales, fúngicos y otros desechos. Con frecuencia se aíslan del suelo, alimentos, pintura, textiles y otros materiales orgánicos, o colonizan como invasores secundarios lesiones foliares causadas por hongos fitopatógenos (Ellis, 1976 en Bensch *et al.*, 2012). Este hongo ha sido reportado en corales del género *Favia* y *Palythoa*, así como en esponjas de géneros como *Tedania* y *Haliclona* en Brasil (Paulino *et al.*, 2020). Las especies de

Cladosporium que se encuentran en entornos marinos han despertado interés debido a su capacidad para producir una amplia gama de metabolitos con diversas actividades biológicas, como agentes anticancerígenos, antimicrobianos, antivirales, entre otros. Además, los hongos marinos como *Cladosporium* sp. han demostrado tener potencial para la biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos, lo que contribuye a la reducción de la contaminación en las áreas afectadas (Mohamed & Ibrahim, 2021). Por otro lado, Xu y colaboradores (2018) realizaron bioensayos para evaluar la actividad antimicrobiana de cepas de *Cladosporium* aisladas de corales pétreos del Mar del Sur de China y determinaron que *Cladosporium* sp. tenía actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Vibrio parahaemolyticus*, mientras que *Cladosporium tenuissimum* tenía actividad antimicrobiana contra *Photobacterium damsela*.

La especie que se encontró en este estudio, *C. sphaerospermum* ha sido reportada en raíces de la planta de la soya (*Glycine max*) teniendo influencia positiva en su crecimiento (Hamayun *et al.*, 2009). También ha sido aislada de muestras provenientes de sedimentos del fondo marino a altas profundidades en mares de China (Mohamed & Ibrahim, 2021).

Se han reportado hongos del género *Cladosporium* en muestras enfermas de SCTLD de *Colpophyllia natans* (Salerno y Peters, 2020). En este estudio se encontró en muestras de *M.cavernosa* afectadas por la SCTLD.

La presencia de *Cladosporium* en corales afectados por enfermedades como la SCTLD podría estar relacionada con la respuesta del hospedero a condiciones estresantes. *Cladosporium* desempeña diversos roles en los ecosistemas, incluyendo la descomposición de materia orgánica muerta como saprotrófos, la formación de asociaciones simbióticas como endófitos en plantas, la interacción con otros organismos como patógenos y mutualistas, y la contribución a la formación de líquenes en algunas especies. Esta gran adaptabilidad se ve respaldada por una capacidad metabólica notable; muchas especies de *Cladosporium* pueden producir

una amplia variedad de metabolitos secundarios con diversas actividades biológicas, como agentes antimicrobianos, antivirales, anticancerígenos y biodegradadores de contaminantes ambientales.

En este contexto, la detección de *Cladosporium* en *M.cavernosa* aunado a la detección del mismo género de hongos en muestras de *C. natans* también afectadas por la SCTLD (Salerno y Peters, 2020) plantea la hipótesis de que este género de hongos podría estar involucrado en procesos relevantes para la salud y la respuesta fisiológica de los corales ante condiciones estresantes, posiblemente desempeñando funciones como descomponedores. Sin embargo, se requieren investigaciones adicionales para caracterizar con precisión el papel específico de *Cladosporium* en estos procesos.

Familia Aspergillaceae

La familia Aspergillaceae es la que tiene el mayor número de lecturas de este estudio. Tuvo 123 de las 329 lecturas de hongos totales. Se encontró únicamente en la especie de coral *M. cavernosa* y es notable que se encontraron muchas más lecturas en la colonia enferma de *M. cavernosa*, con casi 100 lecturas, mientras que, si bien se encontró en las 2 colonias sanas de *M. cavernosa*, el número de lecturas total no alcanza los 30. En proporción, podemos decir que, en el caso de la colonia enferma, *Aspergillus* constituye casi el 50% de la totalidad de los hongos encontrados, mientras que, en las dos colonias sanas de *M. cavernosa*, constituye entre el 25 y el 30% de la totalidad de hongos encontrados.

La familia Aspergillaceae pertenece al orden Eurotiales, clase Eurotiomycetes, de la división Ascomycota. Hay más de 250 especies del género *Aspergillus*, son comunes y están ampliamente distribuidas. Se encuentran entre los grupos de moho más exitosos, con roles importantes en los ecosistemas naturales y la economía humana, ya que varios productos alimenticios como el koji son producidos gracias a ellos, además de ser organismos de interés en las industrias de biorremediación y farmacéuticas (Bennett, 2009). *Aspergillus* es uno de los géneros de hongos descritos hace más tiempo, ya que fue descubierto en 1729 (Ainsworth, 1976).

Las esporas de *Aspergillus* son componentes comunes de los aerosoles, donde se desplazan a través de corrientes de aire, dispersándose a corta y larga distancia según las condiciones ambientales. Cuando las esporas entran en contacto con una superficie sólida o líquida, se depositan y, si las condiciones son adecuadas, germinan (Kanaani *et al.*, 2008). La capacidad de dispersarse globalmente en corrientes de aire y de crecer casi en cualquier lugar cuando hay alimentos y agua disponibles adecuados hace que este género de hongo sean cosmopolitas ubicuos (Bennett, 2010).

Este género de hongos ha sido ampliamente reportado en corales, siendo una de las primeras veces la investigación en la cual se planteó que *Aspergillus sydowii* era causante de la aspergillosis en gorgonias (Smith *et al.*, 1996). Varios estudios siguieron esa línea de investigación (Geiser *et al.*, 19 Smith, 2004), sin embargo, en 2007, Toledo-Hernández y colaboradores reportaron *A. sydowii* y otras especies de *Aspergillus* en corales de la especie *Gorgonia ventalina* sin ningún tipo de afectación y postularon la idea de que quizá no eran el agente etiológico, ya que parecían ser parte del mycobioma base de corales sanos también (Toledo-Hernández *et al.*, 2008). El género *Aspergillus* fue reportado en varios estudios de corales aparentemente sanos, cómo el de Wegeley colaboradores, quienes encontraron especies de este género cómo *A. oryzae* y *A. fumigatus* en un ejemplar de *Porites astreoides* (Wegley *et al.*, 2007), así como en corales de gorgonias en Ecuador (Soler-Hurtado *et al.*, 2016) y en ejemplares de *Pocillopora acuta* provenientes de diversas localidades de islas de Singapur (Rabbani *et al.*, 2021), lo cual plantea más preguntas sobre la aspergillosis, ya que si bien Smith e investigadores en 1996 realizaron los postulados de Koch para proponer *A. sydowii* como patógeno causante de la aspergillosis, esta especie parece ser abundante en una multitud de especies de corales hermatípicos y ahermatípicos, por lo que podemos suponer que hay otros factores involucrados en la aspergillosis.

Sin embargo, *A. sydowii* también fue reportado en especies de *Porites*, *Pocillopora* y *Acropora* en un estudio sobre blanqueamiento de coral, en el cual reportaron que la abundancia de *A. sydowii* aumentó en los ejemplares blanqueados de *Acropora*, por lo que los autores propusieron que quizá estaba actuando cómo patógeno durante

eventos térmicos de blanqueamiento (Chavanich *et al.*, 2022). En el presente estudio, se observa que tanto en proporción, como en número de lecturas, el género *Aspergillus* es más abundante en una colonia enferma de *M. cavernosa*, lo que podría sugerir que la enfermedad del coral hospedero propicia la proliferación de este hongo. Un estudio que puede sugerir un mecanismo por el cual sucede esto es el de Kirkwood y colaboradores (2010), quienes plantean que algunas cepas de *Aspergillus* pueden catabolizar el dimethylsulfoniopropionato (DMSP), el cual es producido por las algas *Symbiodinium* en los corales, y al catabolizarlo producen dimethyl sulfido (DMS), un gas cuya oxidación produce nubes de condensación sobre los océanos (Sievert *et al.*, 2007 en Kirkwood *et al.*, 2010). Esto plantea una dirección interesante para futuros estudios, ya que la relación entre los hongos y las algas *Symbiodinium* en eventos de SCTLD no está para nada esclarecida.

Por último, algunos estudios se han enfocado en usos biotecnológicos del género *Aspergillus* aislados de corales. Se han aislado con éxito varias moléculas de interés, por ejemplo, polisacáridos extracelulares solubles en agua con actividad antioxidante a partir del hongo asociado al coral *A. versicolor*, que contienen un nuevo manoglucano con alta capacidad para eliminar los radicales superóxidos, lo cual podría ser una fuente potencial de antioxidantes (Chen *et al.*, 2011).

Familia Xylariaceae

La familia Xylariaceae es parte de la clase Sordariomycetes, subclase Xylariomycetidae, orden Xylariales. En este trabajo se reportaron 16 lecturas de esta familia, las cuales se lograron identificar hasta nivel de género, el cual se identificó como *Ascotricha*. Todas las lecturas correspondientes a este género fueron encontradas en la colonia 378, es decir la colonia enferma de *M. cavernosa*. La clase Sordariomycetes es probablemente la clase de Ascomycota más reportada en corales (Roik *et al.*, 2022).

En el caso de la familia Xylariaceae, es interesante notar que varias especies terrestres de Xylariaceae han sido asociadas con un solo tipo de hospedero. Todos los miembros de esta familia tienen capacidad de degradar celulosa y lignina (Rogers, 1979).

También es interesante notar que esta familia ha sido categorizada generalmente en dos tipos principales: las especies que fructifican en tejido vivo dentro del huésped, matando áreas limitadas de tejido y las especies que permanecen en estado de dormancia en el tejido del hospedero hasta que este se encuentra bajo estrés, posterior a lo cual, lo coloniza rápidamente y fructifica sobre él. Ejemplos de estas interacciones se encuentran en géneros como *Anthostomella*, *Daldinia*, *Biscogniauxia*, *Camillea* e *Hypoxylon* (Rogers, 2000).

Por otro lado, si bien no se encontraron reportes del género *Ascotricha* en corales, si hay registros marinos. En un estudio del 2018, investigadores de la India, colectaron sedimento a 1235 m de profundidad en el Océano a partir del cual aislaron hongos del género *Ascotricha*, los cuales presentaron sesquiterpenos con actividades anti fúngicas (Ganesh Kumar *et al.*, 2019). Esta investigación es relevante ya que debido a la gran dificultad de cultivar dichos organismos hay muy poca información de éstos hongos piezófilos o piezotolerantes, es decir hongos que son capaces de sobrevivir y crecer en ambientes de alta presión, como las profundidades oceánicas (Ganesh Kumar *et al.*, 2015).

Familia Trichosphaeriaceae

La familia Trichosphaeriaceae es parte de la clase Sordariomycetes, orden Trichosphaeriales. Este orden tiene una única familia, la familia Trichosphaeriaceae. Cabe mencionar que en este estudio, se logró identificar hasta el nivel de género, el cual correspondió a *Nigrospora*.

Los hongos del género *Nigrospora* son una valiosa fuente de metabolitos secundarios bioactivos, como nigrosporólidos y phomalactonas, los cuales son compuestos que inhiben el crecimiento de plantas. En una investigación del 2008, investigadores colectaron cepas de *Nigrospora* en corales del género *Gorgonia* cerca de las islas Similan en Tailandia. Estas cepas demostraron actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, incluyendo una cepa clínica resistente a la metilina (Trisuwan *et al.*, 2008). En este estudio se encontró el género *Nigrospora* en una colonia

aparentemente sana de *M.cavernosa*. Este hallazgo coincide con investigaciones previas que también identificaron el género *Nigrospora* en corales que parecían estar en buen estado de salud. Por ejemplo, en una investigación realizada en el mar del Norte de Egipto, se descubrió la presencia de la especie *Nigrospora oryzae* en corales sanos de *Acropora* y en un ejemplar sano de *Stylophora pistillata*. Los investigadores emplearon técnicas de cultivo y señalaron que la especie *N. oryzae* fue una de las menos prevalentes. En el mismo estudio, los investigadores inocularon esporas de *N. oryzae* en dos corales, uno de la especie *Galaxea fascicularis* y otro de la especie *Stylophora pistillata*. Observaron que, en el caso de *G. fascicularis*, se desarrollaron manchas negras siete días después de la inoculación y, a los 21 días, el coral falleció. Sin embargo, en *S. pistillata* no se observó ningún cambio (El-Morsy *et al.*, 2017). Es importante destacar que los autores de este estudio no proporcionaron detalles sobre las condiciones de cultivo de los corales inoculados ni algunos aspectos metodológicos, lo que dificulta la interpretación de sus resultados. A pesar de estas limitaciones, el estudio sugiere la posibilidad de un potencial papel patógeno o parasitario dependiendo del hospedero, lo cual es un área de investigación interesante y que merece ser explorada más a fondo.

Familia Roccellacea

Se identificaron 16 lecturas de *Dirina paradoxa* repartidas en 5 colonias de *S. siderea* afectadas por la SCTLD. Se detecto este género de hongo también en una muestra aparentemente sana de *S. siderea*.

Dirina es un género subtropical de hongos liquenizados de tipo crustoso perteneciente a la familia Roccellaceae. Está distribuido principalmente en el hemisferio norte en climas tropicales y templados. Se suelen encontrar en zonas costeras. La especie encontrada, *Dirina paradoxa*, se distribuye en la región del Caribe, en las Bahamas, los Cayos de Florida, las Antillas Menores, las Antillas Neerlandesas, Venezuela y Trinidad. Crece cerca de la costa en la corteza de varios árboles y arbustos, así como en rocas tanto calcáreas como ácidas de la zona costera (Tehler *et al.*, 2013).

Es de notar que hasta la fecha no se han reportado en la literatura hongos liquenizados como parte del holobionte de coral. Sin embargo, sí hay registros marinos del género, ya que la especie *Dirina massiliensis f. sorediata* fue registrada por investigadores de Gran Bretaña en edificios marítimos como invasiva y clasificaron este hongo como halófilo (Fletcher y Crump, 2002), y la misma especie *Dirina paradoxa* es reconocida como "de zona marítima", ya que se encuentra en cortezas de árboles, arbustos y rocas costeras.

La liquenización es una de las relaciones simbióticas que pueden establecer los hongos con las algas y las cianobacterias. Los líquenes siempre están compuestos por un micobionte y por uno o más fotobiontes, que pueden ser algas o cianobacterias, que se encuentran en una unidad morfofisiológica distinta a sus componentes en vida libre (Herrera-Campos *et al.*, 2014). Los hongos del género *Dirina* suelen estar asociados a las algas del género *Trentepohlia* como simbioses liquenizados (Tehler *et al.*, 2013). Existe un intercambio de agua, carbono, nitrógeno y otros elementos esenciales entre los organismos que componen el líquen y su entorno (Lawrey, 1984). Esta forma de simbiosis ha sido considerada mutuamente beneficiosa, es decir, con beneficio para los dos o más componentes involucrados (Scott, 1973 y Nash, 2008). Sin embargo, algunos estudios han descrito la liquenización como un tipo de parasitismo controlado por parte del hongo, el cual se beneficia de los carbohidratos producidos por el fotobionte, lo que puede resultar en un crecimiento más lento del fotobionte en comparación con su forma de vida libre (Ahmadjian, 1993). Otras investigaciones muestran evidencia de cambios en el tipo de relación, que podrían fluctuar entre la simbiosis y la patogenicidad (Arnold *et al.*, 2009), incluso se ha encontrado que la mutación en un solo gen convertía un hongo endosimbionte de planta en parásito (Tanaka *et al.*, 2006). Se ha propuesto que la liquenización es un proceso gradual, que generalmente tiene lugar en los márgenes de la distribución de las algas, donde las condiciones para el crecimiento independiente de cada socio son subóptimas (Golubic, 2005).

Como ya se observó, el género *Dirina* ha sido casi exclusivamente asociado a las algas del género *Trentepohlia*, las cuales no tienen registros marinos. Por otro lado, es sorprendente el hecho de encontrar un hongo liquenizado en corales, ya sugiere varias preguntas como: ¿Con qué fotobiontes están teniendo asociaciones, si no es con *Trentepohlia*? ¿Qué impacto podría tener la presencia de líquenes en la salud de los corales? Dado que este tipo de interacciones aparecen cuando las condiciones son subóptimas para las algas, y en este trabajo se encontró este hongo liquenizado prevalentemente en corales de *S. siderea* enfermos, ¿podría querer decir que las algas del coral, al estar en condiciones estresantes, pueden realizar asociaciones mutualistas con hongos para obtener nutrientes? O bien, ¿podría ser que las relaciones sean más bien parasitarias por parte de los hongos?

Por otro lado, si bien, hasta donde sabemos, no se han encontrado hongos liquenizados hasta ahora en los corales, algunos puntos podrían sugerir que esto podría ser posible. Lo primero es que los líquenes del género *Dirina* suelen crecer en sustratos calcáreos (Tehler *et al.*, 2013), y el esqueleto de coral es una estructura calcárea porosa (Le Campion-Alsumard *et al.*, 1995). También está el hecho de que algunos líquenes han demostrado adaptarse a ambientes marinos (Tindall-Jones *et al.*, 2023). Por último, autores como Amend y colaboradores han sugerido que podría haber relaciones de tipo líquen en los corales (Amend *et al.*, 2012).

Las funciones de los líquenes marinos no están para nada dilucidadas, ya que apenas se han empezado a estudiar (Naranjo-Ortiz & Gabaldón, 2019). Sin embargo, existen datos interesantes, como que se encontraron líquenes que penetran la roca caliza costera incorporando diferentes cianobacterias endolíticas como *Hyella caespitosa* y *H. balani* como simbiontes. Existe cierta evidencia de que esta liquenización es protectora porque las porciones liquenizadas de las colonias de cianobacterias evitan ser comidas por los gastrópodos que se alimentan de ellas (Le Campion-Alsumard y Golubic, 1985).

Se ha reportado también que algunos de los metabolitos secundarios de los líquenes presentan propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antioxidantes, las cuales podrían potencialmente ser de utilidad en la industria biofarmacéutica (Crawford *et al.*, 2019).

Gremios funcionales

El concepto de gremios, también conocidos como grupos funcionales, se refiere a grupos de especies, ya sean relacionadas o no, que explotan la misma clase de recursos ambientales de manera similar, analizando la composición de las comunidades basada en estrategias tróficas. El uso de gremios en el estudio de hongos en corales presenta ciertas limitaciones. Una de las principales limitaciones radica en la variabilidad de las estrategias tróficas de los hongos. A diferencia de algunos grupos de organismos donde las estrategias tróficas pueden ser más estables, los hongos son conocidos por su capacidad de cambiar entre diferentes modos de vida, incluso dentro de una misma especie (Watkinson *et al.*, 2016).

Esto significa que un hongo que generalmente se considera saprófito en ciertas condiciones puede actuar como patógeno o establecer una simbiosis mutualista en otras circunstancias. Esta plasticidad en las estrategias tróficas de los hongos puede complicar la asignación precisa de gremios, ya que un mismo hongo podría caer en diferentes categorías en función de su comportamiento en diferentes momentos o contextos. Además, la falta de información detallada sobre las estrategias de vida de muchos hongos dificulta aún más la definición precisa de gremios en el contexto de los corales. Por otro lado, el uso de categorías amplias en la asignación de gremios en el estudio de hongos en corales tiene por limitante la falta de especificidad. La designación de un hongo como "patótrofo" sugiere que tiene la capacidad de causar enfermedades en otros organismos, pero esta etiqueta no distingue entre diferentes tipos de patógenos. Además, diferentes hongos patógenos pueden tener objetivos hospedantes específicos, lo que significa que un hongo puede ser patógeno para una especie de coral pero no para otra. La falta de precisión en las categorías puede

dificultar la comprensión de las dinámicas de enfermedades en los corales y la implementación de estrategias efectivas de conservación y gestión. Sin embargo, a pesar de estas limitaciones, se optó por el análisis de gremios en el estudio de hongos en corales debido a su capacidad para ofrecer una perspectiva valiosa sobre la ecología de estos ecosistemas.

Como mencionan Roik y colaboradores (2023), el enfoque en gremios permite destilar la complejidad de las comunidades fúngicas en unidades más manejables y revela aspectos cruciales de las interacciones ecológicas y los roles funcionales de los hongos en los corales. A pesar de las fluctuaciones de las estrategias tróficas y la amplitud de las categorías, este enfoque proporciona una herramienta esencial para abordar preguntas sobre la biodiversidad, la dinámica de enfermedades y la contribución de los hongos a la salud y resiliencia de los corales, ya que permite aproximarse a las posibles estrategias tróficas y función de los hongos en el holobionte coral.

Lo primero que se observó en cuanto a la composición por gremio de las 3 especies de coral (Fig. 12) es que en el caso de *S. siderea*, las colonias sanas tienen mayor presencia de hongos patógenos, con una proporción menor de hongos patógenos/saprotrófos y de hongos líquenizados, mientras que las colonias enfermas presentan mayor abundancia de hongos líquenizados y una proporción pequeña de hongos patógenos. El hallazgo de una mayor abundancia de hongos líquenizados en las colonias enfermas podría sugerir que las algas, al encontrarse en una situación subóptima, podrían establecer asociaciones con hongos para obtener un acceso mejorado a los nutrientes disponibles

En el caso de *M. cavernosa*, se observó que en las colonias sanas hubo una mayor abundancia de hongos patógenos y patógenos-saprotrófos, mientras que en las colonias con SCTLD, hubo una mayoría de hongos patógenos-saprotrófos. Esto podría deberse a que los hongos saprotrófos son oportunistas y en el caso de los corales con lesiones, podría ser más fácil para este tipo de hongos colonizar el tejido. Finalmente, en el caso de *O. faveolata*, no se observó ningún cambio en la composición de los

gremios, ya que tanto en las muestras sanas cómo enfermas sólo se encontraron hongos patógenos de animales.

Los resultados obtenidos mediante el uso de FUNGuild muestran la clasificación funcional de diferentes hongos encontrados en el estudio (Tabla 4). Se observó que la mayoría de los OTUs se clasificaron como patótrofo-saprotrófo y corresponden al género *Malassezia*, que es considerado un patógeno de animales. Estos hongos son levaduras facultativas y se ha asignado un nivel de confianza "probable" en su clasificación (Kurtzman *et al.*, 2011). Los hongos del género *Malassezia* son dependientes de lípidos y, en animales como los humanos, se ha reconocido su capacidad para causar enfermedades cutáneas. Sin embargo, su presencia en el microbioma cutáneo de individuos con piel en buen estado de salud revela una dualidad funcional, ya que detectar estos hongos no implica necesariamente que estén siendo patógenos. En el contexto coralino, es crucial destacar que el perfil lipídico está influenciado por la simbiosis con las algas del género *Symbionidium*. En línea con estudios que vinculan la infección viral de estas algas con la SCTLD (Beavers *et al.*, 2023), surge la interrogante sobre una posible conexión aún no comprendida entre la presencia de *Malassezia* y las abundancias o estado de salud de las algas *Symbionidium* que podrían ser las que les proporcionan lípidos.

Además, se identificó un OTU como *Dirina paradoxa*, un hongo líquenizado que se clasifica como simbiotrófo con crecimiento de talo (Tehler *et al.*, 2013)

Los hongos líquenizados podrían tener efectos tanto positivos como negativos en la salud del coral. Por un lado, podrían actuar como patógenos oportunistas y contribuir al deterioro del coral enfermo. Por otro lado, podrían estar desempeñando algún papel en la protección del coral contra patógenos invasores u ofreciendo algún beneficio a través de la asociación simbiótica.

Futuras líneas de investigación podrían involucrar el análisis de expresión génica para investigar las interacciones a nivel molecular entre los hongos líquenizados y el coral. Este enfoque requeriría la identificación de genes específicos que participan en la

respuesta del coral a la presencia de hongos liquenizados, así como el análisis de su expresión bajo diferentes condiciones ambientales y de salud del coral. Este enfoque permitiría comprender mejor los mecanismos moleculares involucrados en la interacción entre el coral y los hongos liquenizados, lo que podría proporcionar información valiosa sobre el papel de estos hongos en la salud y la respuesta fisiológica del coral.

El OTU90 corresponde a *Ascotricha* sp., clasificado como saprotrófo indefinido. Aunque no se especifica su tipo de crecimiento, se asigna un nivel de confianza "probable" en la clasificación (Tedersoo *et al.*, 2014). Por último, el OTU96 se identifica como *Nigrospora* sp., clasificado como saprotrófo indefinido. No se proporciona información sobre su tipo de crecimiento, pero se asigna un nivel de confianza "probable" (Tedersoo *et al.*, 2014).

Los resultados de FUNGuild proporcionan una visión general de los gremios funcionales de los hongos identificados en el estudio. La herramienta FunGuild logró identificar 7 de 9 táxones encontrados, sin embargo es notable que no haya reconocido la secuencia de *Penicillium* ni de *Trichosporon*. La discrepancia en la identificación de las secuencias de *Penicillium* y *Trichosporon* por parte de FUNGuild podría indicar que los linajes o variantes genéticas presentes en las muestras estudiadas son significativamente diferentes de aquellos representados en la base de datos utilizada por la herramienta. Esto podría ser resultado de la variabilidad genética natural dentro de estas especies, así como de la falta de representación adecuada de la diversidad genética en la base de datos de FUNGuild, dado que la mayoría de las secuencias en la base de datos están derivadas de organismos terrestres. Esta situación subraya la necesidad de desarrollar y mantener bases de datos específicas que incluyan una amplia gama de hongos marinos. La creación de estas bases de datos especializadas permitiría una mejor identificación y caracterización de los hongos presentes en los ecosistemas marinos, lo que a su vez mejoraría la precisión de las interpretaciones ecológicas y funcionales derivadas de estudios sobre estos organismos.

CONCLUSIONES

- Este trabajo investigó la presencia y distribución de hongos en los corales *S. siderea*, *O. faveolata* y *M. cavernosa* aparentemente sanos y afectados por la enfermedad de la pérdida del tejido de los corales del Caribe (SCTLD). Se identificaron 8 géneros diferentes: *Malassezia*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Nigrospora*, *Trichosporon*, *Dirina*, *Ascotricha* y *Cladosporium*.
- *Malassezia* fue el único hongo que se encontró en las tres especies de coral y en los dos estados de salud, sin embargo, fue notable que presentó mayores abundancias en las muestras sanas de las 3 especies de coral.
- Se observó que en las muestras de *M. cavernosa* sanas, la mayoría de las lecturas correspondieron a hongos “patógenos de animales”, mientras que en las muestras enfermas, la proporción de hongos patógenos-saprótrofos fue mayor, lo cual podría deberse a que esta especie de coral es más susceptible a la SCTLD.
- En el caso de las muestras de *O. faveolata*, no hubo cambio en los gremios, ya que sólo se registraron hongos patógenos de animales, mientras que en las muestras de *S. siderea*, se reportaron más hongos clasificados como patógeno de animales en muestras sanas y en las muestras enfermas se detectó una mayoría de hongos liquénizados.
- Se resalta la detección del hongo líquenizado *Dirina paradoxa*, encontrado exclusivamente en corales de *Siderastrea siderea*, especialmente en las muestras de colonias afectadas por la SCTLD. Este descubrimiento plantea la necesidad de una investigación más exhaustiva sobre las interacciones entre los hongos líquenizados y los corales, con el objetivo de determinar si factores ambientales o biológicos favorecen estas asociaciones y su impacto en la salud de los corales. Además, se sugiere la posibilidad de investigar si la presencia de hongos líquenizados está relacionada con la vulnerabilidad o la resistencia a enfermedades coralinas, especialmente considerando su asociación con corales afectados por la SCTLD.

ANEXOS

ANEXO 1. Listado taxonómico de las 23 OTUs encontradas que fueron asociadas al reino Fungi.

# de OTU	Reino	Phylum	Clase	Orden	Familia	Género	Especie
109, 24, 108, 34, 32, 209,	<i>Fungi</i>	<i>Basidiomycota</i>	<i>Malasseziomycetes</i>	<i>Malasseziales</i>	<i>Malasseziaceae</i>	<i>Malassezia</i>	
28	<i>Fungi</i>	<i>Basidiomycota</i>	<i>Malasseziomycetes</i>	<i>Malasseziales</i>	<i>Malasseziaceae</i>	<i>Malassezia</i>	<i>globosa</i>
201, 202	<i>Fungi</i>	<i>Ascomycota</i>	<i>Eurotiomycetes</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Aspergillaceae</i>	<i>Aspergillus</i>	
216	<i>Fungi</i>	<i>Ascomycota</i>	<i>Eurotiomycetes</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Aspergillaceae</i>	<i>Penicillium</i>	
210	<i>Fungi</i>	<i>Ascomycota</i>	<i>Sordariomycetes</i>	<i>Trichosphaeriales</i>	<i>Trichosphaeriaceae</i>	<i>Nigrospora</i>	
221	<i>Fungi</i>	<i>Basidiomycota</i>	<i>Tremellomyces</i>	<i>Trichosporonales</i>	<i>Trichosporonoaceae</i>	<i>Trichosporon</i>	
15	<i>Fungi</i>	<i>Ascomycota</i>	<i>Arthoniomycetes</i>	<i>Arthoniales</i>	<i>Roccellaceae</i>	<i>Dirina</i>	<i>paradoxa</i>
199	<i>Fungi</i>	<i>Ascomycota</i>	<i>Sordariomycetes</i>	<i>Xylariales</i>	<i>Xylariaceae</i>	<i>Ascotricha</i>	
183	<i>Fungi</i>	<i>Ascomycota</i>	<i>Eurotiomycetes</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Aspergillaceae</i>	<i>Aspergillus</i>	
198	<i>Fungi</i>	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Capnodiales</i>	<i>Cladosporiaceae</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>sphaerospermum</i>
27	<i>Fungi</i>	<i>Basidiomycota</i>	<i>Malasseziomycetes</i>	<i>Malasseziales</i>	<i>Malasseziaceae</i>	<i>Malassezia</i>	<i>restricta</i>
53	<i>Fungi</i>	<i>Basidiomycota</i>	<i>Agaricomycetes</i>	<i>Agaricales</i>			
206	<i>Fungi</i>	<i>Ascomycota</i>	<i>Dothideomycetes</i>	<i>Capnodiales</i>	<i>Cladosporiaceae</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>dominicanum</i>
213	<i>Fungi</i>	NA	NA	NA	NA	NA	
203	<i>Fungi</i>	NA	NA	NA	NA	NA	
121	<i>Fungi</i>	NA	NA	NA	NA	NA	
25	<i>Fungi</i>	<i>Basidiomycota</i>	<i>Malasseziomycetes</i>	<i>Malasseziales</i>	<i>Malasseziaceae</i>	<i>Malassezia</i>	<i>restricta</i>

REFERENCIAS

Abdel-Lateff, A. (2008). Chemical constituents and biological activities of fungal endophytes of the genus *Eurotium* isolated from marine algae. *Chemistry of Natural Compounds*, 44(5), 584-589.

Adams, A. (2001). Effects of a hurricane on two assemblages of coral reef fishes: multiple-year analysis reverses a false 'snapshot' interpretation. *Bulletin of Marine Science*, 69, 341-356

Aeby, G. S., Ushijima, B., Campbell, J. E., Jones, S., Williams, G. J., Meyer, J. L., ... Paul, V. J. (2019). Pathogenesis of a Tissue Loss Disease Affecting Multiple Species of Corals Along the Florida Reef Tract. *Frontiers Media SA*.

Aeby, G. S., Ushijima, B., Campbell, J. E., Jones, S., Williams, G. J., Meyer, J. L., et al. (2019). Pathogenesis of a tissue loss disease affecting multiple species of corals along the Florida reef tract. *Frontiers in Marine Science*, 6, 678.

Aguayo Leyva, J. E. (2023) Análisis de la microbiota asociada a la enfermedad de pérdida de tejido de corales pétreos en *Pseudodiplora strigosa* en el Caribe mexicano. Tesis para obtener el grado de Maestro de Ciencias por el CIBNOR. BC, México.

Ahmadjian y M. E., Hale Jr. (1993) *The lichens*, V. Academic Press. New York.

Ainsworth, G.C. (1976). *Introduction to the History of Mycology*. Cambridge: Cambridge University Press.

Ainsworth, T. D., Fordyce, A. J., & Camp, E. F. (2017). The Other Microeukaryotes of the Coral Reef Microbiome. *Trends in Microbiology*, 25(12), 980–991.

Aliyu, H., Gorte, O., de Maayer, P. et al. (2020) Genomic insights into the lifestyles, functional capacities and oleagenicity of members of the fungal family *Trichosporonaceae*. *Sci Rep* 10, 2780.

Alvarez-Filip L, Estrada-Saldívar N, Pérez-Cervantes E, Molina-Hernández A, González-Barríos FJ. 2019. A rapid spread of the stony coral tissue loss disease outbreak in the Mexican Caribbean. *PeerJ* 7:e8069

Ambati, R.R.; Phang, S.M.; Ravi, S.; Aswathanarayana, R.G. (2014) Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—A review. *Mar. Drugs*, 12, 128–152

Amend, A. (2014). From Dandruff to Deep-Sea Vents: *Malassezia*-like Fungi Are Ecologically Hyper-diverse. In J. Heitman (Ed.), *PLoS Pathogens* (Vol. 10, Issue 8, p. e1004277). Public Library of Science (PLoS).

Amend, A. S., Barshis, D. J., & Oliver, T. A. (2012). Coral-associated marine fungi form novel lineages and heterogeneous assemblages. *The ISME Journal*, 6(7), 1291-1301.

Amend, A., Burgaud, G., Cunliffe, M., Edgcomb, V. P., Ettinger, C. L., Gutiérrez, M. H., Heitman, J., Hom, E. F. Y., Ianiri, G., Jones, A. C., Kagami, M., Picard, K. T., Quandt, C. A., Raghukumar, S., Riquelme, M., Stajich, J., Vargas-Muñiz, J., Walker,

A. K., Yarden, O., & Gladfelter, A. S. (2019). Fungi in the Marine Environment: Open Questions and Unsolved Problems. *mBio*, 10(2), e01189-18.

Anslan S, Nilsson RH, Wurzbacher C, Baldrian P, Leho Tedersoo, Bahram M. (2018) Great differences in performance and outcome of high-throughput sequencing data analysis platforms for fungal metabarcoding. *MycoKeys*. Sep 11;(39):29-40.

Arnold, J., & Edwards, T. (2009). Crossing borders – Teacher education in context – putting pedagogy in its place. Refereed paper presented at ‘Teacher education crossing borders: Cultures, contexts, communities and curriculum’ the annual conference of the Australian Teacher Education Association (ATEA), Albury, 28 June – 1 July.

Asplund, J. and Wardle, D.A. (2017), How lichens impact on terrestrial community and ecosystem properties. *Biol Rev*, 92: 1720-1738.

B. Walker, N. Turner, Hunter K. G. Noren, S. Buckley, & Kelly A. Pitts. (2021). Optimizing Stony Coral Tissue Loss Disease (SCTLD) Intervention Treatments on *Montastraea cavernosa* in an Endemic Zone. *Frontiers in Marine Science*.

Bache S, Wickham H (2022). *magrittr*: A Forward-Pipe Operator for R.

Banks, S., & Foster, K. (2017). Baseline levels of *Siderastrea siderea* bleaching under normal environmental conditions in little Cayman. *Open Journal of Marine Science*, 07(01), 142–154.

Banks, S., & Foster, K. (2017). Baseline Levels of *Siderastrea siderea* Bleaching under Normal Environmental Conditions in Little Cayman. In *Open Journal of Marine Science* (Vol. 07, Issue 01, pp. 142–154). Scientific Research Publishing, Inc.

Bao, J., Sun, YL., Zhang, XY. et al. (2013) Antifouling and antibacterial polyketides from marine gorgonian coral-associated fungus *Penicillium* sp. SCSGAF 0023. *J Antibiot* 66, 219–223.

Barrero-Canosa, J., Dueñas, L. F., & Sánchez, J. A. (2012). Isolation of potential fungal pathogens in gorgonian corals at the Tropical Eastern Pacific. Springer Science and Business Media LLC.

Beavers, K.M., Van Buren, E.W., Rossin, A.M. et al. (2023) Stony coral tissue loss disease induces transcriptional signatures of in situ degradation of dysfunctional Symbiodiniaceae. *Nat Commun* 14, 2915.

Behzad, H., Mineta, K., & Gojobori, T. (2018). Global ramifications of dust and sandstorm microbiota. *Genome biology and evolution*, 10(8), 1970-1987.

Beltrán-Torres, A. U., & Carricatt-Ganivet, J. P. (1993). Skeletal morphologic variation in *Montastrea cavernosa* (Cnidaria: Scleractinia) at Isla Verde Coral Reef, Veracruz, Mexico. *Revista De Biología Tropical*, 41(3A), 559–562.

Bengtsson-Palme, J., Ryberg, M., Hartmann, M., Branco, S., Wang, Z., Godhe, A., De Wit, P., Sánchez-García, M., Ebersberger, I., de Sousa, F., Amend, A., Jumpponen, A., Unterseher, M., Kristiansson, E., Abarenkov, K., Bertrand, Y. J. K., Sanli, K., Eriksson, K. M., Vik, U., ... Nilsson, R. H. (2013). Improved software detection and extraction

of ITS1 and ITS2 from ribosomal ITS sequences of fungi and other eukaryotes for analysis of environmental sequencing data. In M. Bunce (Ed.), *Methods in Ecology and Evolution* Vol. 4, Issue 10, pp. 914–919, Wiley.

Bennett, J. W. (2009). *Aspergillus: a primer for the novice*. *Medical Mycology*, 47(sup1), S5–S12.

Bennett, J. W. (2010) An overview of the genus *Aspergillus*. PP. 1-17. In: *Aspergillus molecular Biology and Genomics*. M. Machida and K. Gomi (eds.), Caister Academic Press, Norfolk, UK.

Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2012). The genus *Cladosporium*. *Studies in mycology*, 72(1), 1–401.

Bentis, C., Kaufman, L., & Golubic, S. (2000). *Endolithic fungi in reef-building corals (Order: Scleractinia) are common, cosmopolitan, and potentially pathogenic*. University of Chicago Press.

Boddy, L. (2016a). *Fungi, Ecosystems, and Global Change*. En *The Fungi* (pp. 361-400). Elsevier.

Boddy, L. (2016b). *Interactions Between Fungi and Other Microbes*. En *The Fungi* (pp. 337-360). Elsevier.

Boekhout, T., Amend, A. S., El Baidouri, F., Gabaldón, T., Geml, J., Mittelbach, M., Robert, V., Tan, C. S., Turchetti, B., Vu, D., Wang, Q.-M., & Yurkov, A. (2022). Trends in yeast diversity discovery. *Fungal Diversity*, 114(1), 491-537.

Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA, Alexander H, Alm EJ, Arumugam M, Asnicar F... Caporaso JG. 2019. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology* 37: 852–857.

Bonthond G, Merselis DG, Dougan KE, Graff T, Todd W, Fourqurean JW, Rodriguez-Lanetty M. 2018. Inter-domain microbial diversity within the coral holobiont *Siderastrea siderea* from two depth habitats. *PeerJ* 6:e4323

Bonthond, G., Barilo, A., Allen, R. J., Cunliffe, M., & Krueger-Hadfield, S. A. (2022). Fungal endophytes vary by species, tissue type, and life cycle stage in intertidal macroalgae. In C. Lane (Ed.), *Journal of Phycology* (Vol. 58, Issue 2, pp. 330–342). Wiley.

Brandt, M. E., Ennis, R. S., Meiling, S. S., Townsend, J., Cobleigh, K., Glahn, A., ... Smith, T. B. (2021). The emergence and initial impact of stony coral tissue loss disease (SCTLD) in the United States Virgin Islands. *Frontiers in Marine Science*, 8.

Broadbent, A. and G. Jones, 2002. DMSP in corals and benthic algae from the Great Barrier Reef. *Estuar. Coast. Shelf S.* 55: 547 – 555

- Burgaud, G., Le Calvez, T., Arzur, D., Vandenkoornhuyse, P., & Barbier, G. (2009). Diversity of culturable marine filamentous fungi from deep-sea hydrothermal vents. *Environmental Microbiology*, 11(6), 1588-1600.
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature methods*, 13(7), 581–583.
- Casadevall, A., Cordero, R. J. B., Bryan, R., Nosanchuk, J., & Dadachova, E. (2017). Melanin, Radiation, and Energy Transduction in Fungi. *Microbiology spectrum*, 5(2).
- Castillo, K. D., Ries, J. B., Bruno, J. F., & Westfield, I. T. (2014). The reef-building coral *Siderastrea siderea* exhibits parabolic responses to ocean acidification and warming. *Proceedings. Biological Sciences*, 281.
- Castle, S. S. (2007). *Penicillins*. Elsevier.
- Chavanich, S., Kusdianto, H., Kullapanich, C., Jandang, S., Wongsawaeng, D., Ouazzani, J., Viyakarn, V., & Somboonna, N. (2022). Microbiomes of Healthy and Bleached Corals During a 2016 Thermal Bleaching Event in the Andaman Sea of Thailand. *Frontiers in Marine Science*, 9, 763421.
- Chen, R.W., Li, Z., Huang, J. et al. (2024) The community stability of Symbiodiniaceae and bacteria of different morphological corals and linkages to coral susceptibility to anthropogenic disturbance. *Coral Reefs* 43, 467–481.
- Chen, Y., Mao, W., Tao, H., Zhu, W., Qi, X., Chen, Y., Li, H., Zhao, C., Yang, Y., Hou, Y., Wang, C., & Li, N. (2011). Structural characterization and antioxidant properties of an exopolysaccharide produced by the mangrove endophytic fungus *Aspergillus* sp. Y16. In *Bioresource Technology* (Vol. 102, Issue 17, pp. 8179–8184). Elsevier BV.
- Coombes, K. R., Brock, G., Abrams, Z. B., & Abruzzo, L. V. (2018). *Polychrome: Creating and Assessing Qualitative Palettes With Many Colors*. Cold Spring Harbor Laboratory.
- Crawford, S.D. (2019). Lichens Used in Traditional Medicine. In: Ranković, B. (eds) *Lichen Secondary Metabolites*. Springer, Cham.
- Desrosiers, C., Leflaive, J., Eulin, A., & Ten-Hage, L. (2013). Bioindicators in marine waters: Benthic diatoms as a tool to assess water quality from eutrophic to oligotrophic coastal ecosystems. In *Ecological Indicators* (Vol. 32, pp. 25–34). Elsevier BV.
- Do Hong T.T., Nguyen H.T., Le Thang V., Nguyen Thanh T.K., Phan X.T. (2023) Biodiversity Of Marine Yeasts Isolated From Coral Sand In Truong Sa Archipelago, Khanh Hoa Province, Vietnam. *Geography, environment, sustainability*.;16(1):132-139.
- Domart-Coulon, I., Tambutté, S., Tambutté, E., & Allemand, D. (2004). Short term viability of soft tissue detached from the skeleton of reef-building corals. Elsevier BV.
- Dugan, F.M., Schubert, K., Braun, U. (2004) Check-list of *Cladosporium* names. *Schlechtendalia* 11:1 – 103.

- Dungan, A. M., Bulach, D., Lin, H., van Oppen, M. J. H., & Blackall, L. L. (2021). Development of a free radical scavenging bacterial consortium to mitigate oxidative stress in cnidarians. Wiley.
- Edgcomb, V. P., Beaudoin, D., Gast, R., Biddle, J. F., & Teske, A. (2011). Marine subsurface eukaryotes: the fungal majority. In *Environmental Microbiology* (Vol. 13, Issue 1, pp. 172–183). Wiley.
- El-Morsy., E.M., Hassan. I, Farhat, A., M. T., M., y Abu El-Regal, M. (2017). Pathogenicity of Fungi Colonizing Some Hard Corals and Invertebrates from the Northern Egyptian Red Sea Coast. Egypt's Presidential Specialized Council for Education and Scientific Research.
- El-Morsy. M., E., Ibrahim H. A. H, Farhat, A., Mo. T., M., & M, A. E. (2017). Pathogenicity of Fungi Colonizing Some Hard Corals and Invertebrates from the Northern Egyptian Red Sea Coast. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 21(2), 47-61.
- Esslinger, T. L. 2012. A cumulative checklist for the lichen-forming, lichenicolous and allied fungi of the continental United States and Canada. North Dakota State University.
- Fang Wang, Ke Wang, Lei Cai, Mingjun Zhao, Paul M Kirk, Guomei Fan, Qinglan Sun, Bo Li, Shuai Wang, Zhengfei Yu, Dong Han, Juncai Ma, Linhuan Wu, Yijian Yao, Fungal names: a comprehensive nomenclatural repository and knowledge base for fungal taxonomy, *Nucleic Acids Research*, Volume 51, Issue D1, 6 January 2023, Pages D708–D716.
- Feofilova, E.P. The fungal cell wall: Modern concepts of its composition and biological function. *Microbiology* 79, 711–720 (2010).
- Finn RD, Clements J, Eddy SR. HMMER web server: interactive sequence similarity searching. *Nucleic Acids Res.* 2011 Jul;39(Web Server issue):W29-37.
- Fletcher, A., Crump, R. (2002). Monitoring Maritime Habitats. In: Nimis, P.L., Scheidegger, C., Wolseley, P.A. (eds) *Monitoring with Lichens — Monitoring Lichens*. NATO Science Series, vol 7. Springer, Dordrecht.
- Ganesh Kumar, A., Balamurugan, K., Vijaya Raghavan, R., Dharani, G., & Kirubakaran, R. (2019). Studies on the antifungal and serotonin receptor agonist activities of the secondary metabolites from piezotolerant deep-sea fungus *Ascotricha* sp. *Mycology*, 10(2), 92-108.
- Gao ZLi B, Zheng C, Wang G 2008. Molecular Detection of Fungal Communities in the Hawaiian Marine Sponges *Suberites zeteki* and *Mycale armata*. *Appl Environ Microbiol* 74.
- Gardes, M. y Bruns, T. D. (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 2(2), 113–118.

Gardner, T. A., Côté, I. M., Gill, J. A., Grant, A., & Watkinson, A. R. (2003). Long-Term Region-Wide Declines in Caribbean Corals. In *Science* (Vol. 301, Issue 5635, pp. 958–960). American Association for the Advancement of Science (AAAS).

Gladfelter, A. S., James, T. Y., & Amend, A. S. (2019). Marine fungi. *Current Biology*, 29(6), R191-R195.

Glasl, B., Herndl, G. & Frade, P. The microbiome of coral surface mucus has a key role in mediating holobiont health and survival upon disturbance. *ISME J* 10, 2280–2292 (2016).

Góes-Neto, A., Marcelino, V. R., Verbruggen, H., da Silva, F. F., & Badotti, F. (2019). Biodiversity of endolithic fungi in coral skeletons and other reef substrates revealed with 18S rDNA metabarcoding. In *Coral Reefs* (Vol. 39, Issue 1, pp. 229–238). Springer Science and Business Media LLC.

Golubic, S., Radtke, G., & Champion-Alsumard, T. L. (2005). Endolithic fungi in marine ecosystems. *Trends in Microbiology*, 13(5), 229-235.

Gostinčar C, Gunde-Cimerman N. Overview of Oxidative Stress Response Genes in Selected Halophilic Fungi. *Genes*. 2018; 9(3):143.

Grossart, HP., Van den Wyngaert, S., Kagami, M. et al. Fungi in aquatic ecosystems. *Nat Rev Microbiol* 17, 339–354 (2019).

Gunde-Cimerman, N., Sonjak, S., Zalar, P., Frisvad, J. C., Diderichsen, B., & Plemenitaš, A. (2003). Extremophilic fungi in arctic ice: A relationship between adaptation to low temperature and water activity. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 28(28-32), 1273-1278.

Gutiérrez-Isaza, N., Espinoza-Avalos, J., León-Tejera, H. P., & González-Solís, D. (2015). Endolithic community composition of *Orbicella faveolata* (Scleractinia) underneath the interface between coral tissue and turf algae. *Coral Reefs*, 34(2), 625–630.

Hallegraeff, G., Coman, F., Davies, C., Hayashi, A., McLeod, D., Slotwinski, A., Whittock, L., & Richardson, A. J. (2014). Australian Dust Storm Associated with Extensive *Aspergillus sydowii* Fungal “Bloom” in Coastal Waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(11), 3315-3320.

Hamayun, M., Afzal Khan, S., Ahmad, N. et al. *Cladosporium sphaerospermum* as a new plant growth-promoting endophyte from the roots of *Glycine max* (L.) Merr. *World J Microbiol Biotechnol* 25, 627–632 (2009).

Hannon, G.J. (2010) FASTX-Toolkit.

Hawksworth D. (2000). Freshwater and marine lichen-forming fungi. *Fungal Diversity* 5:1–7.

Hawksworth DL, Lücking R. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiol Spectr*. 2017 Jul;5(4).

Hawksworth, D.L. (1987). Observations on three algicolous microfungi. Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh 44: 549-560.

Herrera-Campos, Ma. de los Á., Lücking, R., Pérez-Pérez, R. E., Miranda-González, R., Sánchez, N., Barcenás-Peña, A., Carrizosa, A., Zambrano, A., Ryan, B. D., & Nash, T. H., III. (2014). Biodiversidad de líquenes en México. In *Revista Mexicana de Biodiversidad* (Vol. 85, pp. 82–99). Universidad Nacional Autónoma de México.

Hill, R. W., J. W. H. Dacey and D. A. Krupp, 1995. Dimethylsulfoniopropionate in reef corals. *Bull. Mar. Sci.* 57: 489 – 494.

Horowitz Brown, S., Zarnowski, R., Sharpee, W. C., & Keller, N. P. (2008). Morphological transitions governed by density dependence and lipoxigenase activity in *Aspergillus flavus*. *Applied and environmental microbiology*, 74(18), 5674–5685.

James, T. Y., Kauff, F., Schoch, C. L., Matheny, P. B., Hofstetter, V., Cox, C. J., ... Vilgalys, R. (2006). Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*, 443(7113), 818–822.

Janßen, A., Wizemann, A., Klicpera, A., Satari, D. Y., Westphal, H., & Mann, T. (2017). Sediment Composition and Facies of Coral Reef Islands in the Spermonde Archipelago, Indonesia. In *Frontiers in Marine Science* (Vol. 4). Frontiers Media SA.

Jimenez, I. M., Köhl, M., Larkum, A. W. D., & Ralph, P. J. (2008). Heat budget and thermal microenvironment of shallow-water corals: Do massive corals get warmer than branching corals? In *Limnology and Oceanography* (Vol. 53, Issue 4, pp. 1548–1561). Wiley.

Jiménez-Gómez, I., Valdés-Muñoz, G., Moreno-Ulloa, A., Pérez-Llano, Y., Moreno-Perlín, T., Silva-Jiménez, H., Barreto-Curiel, F., Sánchez-Carbente, M. del R., Folch-Mallol, J. L., Gunde-Cimerman, N., Lago-Lestón, A., & Batista-García, R. A. (2022). Surviving in the Brine: A Multi-Omics Approach for Understanding the Physiology of the Halophile Fungus *Aspergillus sydowii* at Saturated NaCl Concentration. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). Frontiers Media SA.

Kanaani, H., Hargreaves, M., Smith, J., Ristovski, Z., Agranovski, V., & Morawska, L. (2008). Performance of UVAPS with respect to detection of airborne fungi. In *Journal of Aerosol Science* (Vol. 39, Issue 2, pp. 175–189). Elsevier BV.

Kimes, N. E., Van Nostrand, J. D., Weil, E., Zhou, J., & Morris, P. J. (2010). Microbial functional structure of *Montastraea faveolata*, an important Caribbean reef-building coral, differs between healthy and yellow-band diseased colonies. *Environmental Microbiology*, 12(2), 541–556.

Kirkwood, M., Todd, J.D., Rypien, K.L., Johnston A.W. The opportunistic coral pathogen *Aspergillus sydowii* contains dddP and makes dimethyl sulfide from dimethylsulfoniopropionate, *The ISME Journal*, Volume 4, Issue 1, January 2010, Pages 147–150,

Kohlmeyer, J. and Kohlmeyer, E. (1979) *Marine mycology—The higher fungi*. Academic Press, New York.

- Kurtzman, C. P., Fell, J. W., & Boekhout, T. (2011). Definition, Classification and Nomenclature of the Yeasts. In *The Yeasts* (pp. 3–5). Elsevier.
- Lahti, L. Shetty, S. et al. (2017). Tools for microbiome analysis in R.
- Lawrey, D. J. 1984. *Biology of lichenized fungi*. Praeger, New York. 408 p.
- Le Campion-Alsumard, T., Golubic, S. (1985): *Hyella caespitosa* Bornet Flahault and *Hyella balani* Lehmann (Pleurocapsales, Cyanophyta): a comparative study. - *Algological Studies*, 38/39, 119-148
- Le Campion-Alsumard, T., Golubic, S., & Priess, K. (1995). Fungi in corals: Symbiosis or disease? Interaction between polyps and fungi causes pearl-like skeleton biomineralization. *Marine Ecology Progress Series*, 117, 137-147.
- Lirman, D., & Fong, P. (2007). Is proximity to land-based sources of coral stressors an appropriate measure of risk to coral reefs? An example from the Florida Reef Tract. *Marine Pollution Bulletin*, 54(6), 779–791.
- Lutzoni, F., Pagel, M. & Reeb, V. Major fungal lineages are derived from lichen symbiotic ancestors. *Nature* 411, 937–940 (2001).
- McDonald, D., Clemente, J.C., Kuczynski, J. et al. The Biological Observation Matrix (BIOM) format or: how I learned to stop worrying and love the ome-ome. *GigaSci* 1, 7 (2012).
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one*, 8(4), e61217.
- McNeil, B. I., Matear, R. J., & Barnes, D. J. (2004). Coral reef calcification and climate change: The effect of ocean warming. *Geophysical Research Letters*, 31(22).
- Meiling, S. S., Muller, E. M., Lasseigne, D., Rossin, A., Veglia, A. J., MacKnight, N.,... Brandt, M. E. (2021). Variable species responses to experimental stony coral tissue loss disease (SCTLD) exposure. *Frontiers in Marine Science*, 8.
- Mikryukov, V. metagMisc: miscellaneous functions for metagenomic analysis. R-package (v.0.0.4) (2020).
- Mitchison-Field, L. M. Y., Vargas-Muñiz, J. M., Stormo, B. M., Vogt, E. J. D., Van Dierdonck, S., Pelletier, J. F., Ehrlich, C., Lew, D. J., Field, C. M., & Gladfelter, A. S. (2019). Unconventional Cell Division Cycles from Marine-Derived Yeasts. *Current biology: CB*, 29(20), 3439–3456.e5.
- Mohamed, G. A., & Ibrahim, S. R. M. (2021). Untapped Potential of Marine-Associated Cladosporium Species: An Overview on Secondary Metabolites, Biotechnological Relevance, and Biological Activities. *Marine Drugs*, 19(11), 645.
- Money N. P. (2016). “Fungal diversity,” in *The Fungi*, eds Watkinson S. C., Boddy L., Money N. P. (Boston: Academic Press;), 1–36.
- Nagelkerken, I., Van Der Velde, G., Gorissen, M. W., Meijer, G. J., Van’t Hof, T., & Den Hartog, C. (2000). Importance of Mangroves, Seagrass Beds and the Shallow

Coral Reef as a Nursery for Important Coral Reef Fishes, Using a Visual Census Technique. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 51(1), 31-44.

Naranjo-Ortiz, M. A., & Gabaldón, T. (2019). Fungal evolution: Major ecological adaptations and evolutionary transitions. *Biological Reviews*, 94(4), 1443-1476.

Nash, T. H. (2008) Nitrogen, its metabolism and potential contribution to ecosystems. In *Lichen biology*. 2nd. ed., T. H. Nash III (ed.). Cambridge University Press. Cambridge y Nueva York. p. 216-233

Nguyen, N. H., Song, Z., Bates, S. T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., Schilling, J. S., & Kennedy, P. G. (2016). FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. In *Fungal Ecology* (Vol. 20, pp. 241–248). Elsevier BV.

Nikolcheva, L. G., Cockshutt, A. M., & Bärlocher, F. (2003). Determining Diversity of Freshwater Fungi on Decaying Leaves: Comparison of Traditional and Molecular Approaches. In *Applied and Environmental Microbiology* (Vol. 69, Issue 5, pp. 2548–2554). American Society for Microbiology.

Ogwugwa, V. H., Ogwugwa, J., & Bandh, S. A. (2022). Mycoloop: Role in shaping aquatic ecosystems. En *Freshwater Mycology* (pp. 117-133). Elsevier.

Otte, M.L., Wilson, G., Morris, J.T, Moran, B. Dimethylsulphoniopropionate (DMSP) and related compounds in higher plants, *Journal of Experimental Botany*, Volume 55, Issue 404, August 2004, Pages 1919–1925

Pang, K.-L., Overy, D. P., Jones, E. B. G., Calado, M. da L., Burgaud, G., Walker, A. K., Johnson, J. A., Kerr, R. G., Cha, H.-J., & Bills, G. F. (2016). ‘Marine fungi’ and ‘marine-derived fungi’ in natural product chemistry research: Toward a new consensual definition. In *Fungal Biology Reviews* (Vol. 30, Issue 4, pp. 163–175). Elsevier BV.

Paulino, G. V. B., Félix, C. R., & Landell, M. F. (2020). Diversity of filamentous fungi associated with coral and sponges in coastal reefs of northeast Brazil. *Journal of Basic Microbiology*, 60(2), 103-111.

Paulson, J. N., Stine, O. C., Bravo, H. C., & Pop, M. (2013). Differential abundance analysis for microbial marker-gene surveys. *Nature methods*, 10(12), 1200–1202.

Peixoto, R. S., Harkins, D. M., & Nelson, K. E. (2021). Advances in Microbiome Research for Animal Health. *Annual Reviews*. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-091020-075907>

Pernice, M., Raina, J.-B., Rådecker, N., Cárdenas, A., Pogoreutz, C., & Voolstra, C. R. (2020). Down to the bone: The role of overlooked endolithic microbiomes in reef coral health. *The ISME Journal*, 14(2), 325-334.

Perry, C.T., Spencer, T. & Kench, P.S. Carbonate budgets and reef production states: a geomorphic perspective on the ecological phase-shift concept. *Coral Reefs* 27, 853–866 (2008).

- Pölme, S., Abarenkov, K., Henrik Nilsson, R., Lindahl, B. D., Clemmensen, K. E., Kauserud, H., Nguyen, N., Kjøller, R., Bates, S. T., Baldrian, P., Frøslev, T. G., Adojaan, K., Vizzini, A., Suija, A., Pfister, D., Baral, H.-O., Järv, H., Madrid, H., Nordén, J., ... Tedersoo, L. (2020). FungalTraits: A user-friendly traits database of fungi and fungus-like stramenopiles. *Fungal Diversity*, 105(1), 1-16.
- Precht, W., Gintert, B., Robbart, M. et al. Unprecedented Disease-Related Coral Mortality in Southeastern Florida. *Sci Rep* 6, 31374 (2016).
- Priess, K., Le Campion-Alsumard, T., Golubic, S. et al. (2000) Fungi in corals: black bands and density-banding of *Porites lutea* and *P. lobata* skeleton. *Marine Biology* 136, 19–27.
- Prohic, A., Jovovic Sadikovic, T., Krupalija-Fazlic, M., & Kuskunovic-Vlahovljak, S. (2016). *Malassezia* species in healthy skin and in dermatological conditions. *International journal of dermatology*, 55(5), 494–504.
- Putnam, H. M., Barott, K. L., Ainsworth, T. D., & Gates, R. D. (2017). The Vulnerability and Resilience of Reef-Building Corals. In *Current Biology* (Vol. 27, Issue 11, pp. R528–R540). Elsevier BV.
- Rabbani, G., Huang, D., & Wainwright, B. J. (2021). The mycobiome of *Pocillopora acuta* in Singapore. *Coral Reefs*, 40(5), 1419-1427.
- Ricci, F., Rossetto Marcelino, V., Blackall, L. L., Kühl, M., Medina, M., & Verbruggen, H. (2019). Beneath the surface: Community assembly and functions of the coral skeleton microbiome. *Microbiome*, 7(1), 159.
- Rioja-Nieto, R., Garza-Pérez, R., Álvarez-Filip, L., Ismael, M.-T., & Cecilia, E. (2019). The Mexican Caribbean: From Xcalak to Holbox. En *World Seas: An Environmental Evaluation* (pp. 637-653). Elsevier.
- Rodriguez, R.J., Redman, R.S. & Henson, J.M. The Role of Fungal Symbioses in the Adaptation of Plants to High Stress Environments. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* 9, 261–272 (2004).
- Rogers, J. D. (1979). The Xylariaceae: Systematic, Biological and Evolutionary Aspects. In *Mycologia* (Vol. 71, Issue 1, pp. 1–42). Informa UK Limited.
- Rogers, J. D. (2000). Thoughts and musings on tropical Xylariaceae. *Mycological Research*, 104(12), 1412-1420.
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., & Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584.
- Rohwer, F., Breitbart, M., Jara, J. et al. Diversity of bacteria associated with the Caribbean coral *Montastraea franksi*. *Coral Reefs* 20, 85–91 (2001).
- Rohwer, F., Seguritan, V., Azam, F., & Knowlton, N. (2002). Diversity and distribution of coral-associated bacteria. In *Marine Ecology Progress Series* (Vol. 243, pp. 1–10). Inter-Research Science Center.

- Roik, A., Reverter, M., & Pogoreutz, C. (2022). A roadmap to understanding diversity and function of coral reef-associated fungi. *FEMS Microbiology Reviews*, fuac028.
- Rosales, S. M., Huebner, L. K., Clark, A. S., McMinds, R., Ruzicka, R. R., & Muller, E. M. (2022). Bacterial Metabolic Potential and Micro-Eukaryotes Enriched in Stony Coral Tissue Loss Disease Lesions. *Frontiers Media SA*.
- Rosenberg, E., Koren, O., Reshef, L., Efrony, R., & Zilber-Rosenberg, I. (2007). The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. *Nature reviews. Microbiology*, 5(5), 355–362.
- Salerno, J.L. y Peters, E.C. (2020) Microscopic and Microbial Insights into the Stony Coral Tissue Loss Disease Outbreak Across Multiple Coral Species on Florida’s Coral Reef. Florida Departement of Environmental Protection Office of Resilience and Coastal Protection by George Mason University.
- Sarma, V. V. (2019). Marine Fungal Diversity: Present Status and Future Perspectives. En T. Satyanarayana, B. N. Johri, & S. K. Das (Eds.), *Microbial Diversity in Ecosystem Sustainability and Biotechnological Applications* (pp. 267-291). Springer Singapore.
- Saunte, D. M. L., Gaitanis, G., & Hay, R. J. (2020). *Malassezia*-Associated Skin Diseases, the Use of Diagnostics and Treatment. In *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 10). Frontiers Media SA.
- Scott, G. D. 1973. Evolutionary aspects of symbiosis. In *The lichens*, V. Ahmadjian y M. E., Hale Jr. (eds.). Academic Press. New York. p. 581-598.
- Seena, S., Barros, J., Graça, M. A. S., Bärlocher, F., & Arce-Funck, J. (2022). Aquatic hyphomycete spores: What do we know, where do we go from here? En *Freshwater Mycology* (pp. 1-20). Elsevier.
- Sharp, W. C., Shea, C. P., Maxwell, K. E., Muller, E. M., and Hunt, J. H. (2020). Evaluating the small-scale epidemiology of the stony-coral -tissue-loss-disease in the middle Florida Keys. *PLoS One* 15:e0241871.
- Shetty S, Lahti L (2022). microbiomeutilities: microbiomeutilities: Utilities for Microbiome Analytics. R package version 1.00.17.
- Shilling, E. N., Combs, I. R., & Voss, J. D. (2021). Assessing the effectiveness of two intervention methods for stony coral tissue loss disease on *Montastraea cavernosa*. *Scientific Reports*, 11(1), 8566.
- Shilling, E.N., Combs, I.R. & Voss, J.D. (2021) Assessing the effectiveness of two intervention methods for stony coral tissue loss disease on *Montastraea cavernosa*. *Sci Rep* 11, 8566.
- Sievert, S. M., Kiene, R. P., & Schultz-Vogtz, H. N. (2007). The Sulfur Cycle. *Oceanography*, 20(2), 117–123.
- Sinha, R. P., Singh, S. P., & Häder, D. P. (2007). Database on mycosporines and mycosporine-like amino acids (MAAs) in fungi, cyanobacteria, macroalgae,

phytoplankton and animals. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 89(1), 29–35.

Smith GW, Ives LD, Nagelkerken IA, Ritchie KB (1996) Caribbean sea fan mortalities. *Nature* 383: 487

Smith GW., Ives, LD.;Nagelkerken I.A. y Ritchie, K.B. (1996) Caribbean sea fan mortalities. *Nature* 383:487

Smith, G.W., Weil, E. (2004). Aspergillosis of Gorgonians. In: Rosenberg, E., Loya, Y. (eds) *Coral Health and Disease*. Springer, Berlin, Heidelberg.

Smith, G.W., Weil, E. (2004). Aspergillosis of Gorgonians. In: Rosenberg, E., Loya, Y. (eds) *Coral Health and Disease*. Springer, Berlin, Heidelberg.

Soler-Hurtado, M. M., Sandoval-Sierra, J. V., Machordom, A., & Diéguez-Uribeondo, J. (2016). *Aspergillus sydowii* and Other Potential Fungal Pathogens in Gorgonian Octocorals of the Ecuadorian Pacific. *PLOS ONE*, 11(11), e0165992.

Statzell–Tallman A, Scorzetti G, Fell JW (2010). *Candida spencermartinsiae* sp. nov., *Candida taylorii* sp. nov. and *Pseudozyma abaconensis* sp. nov., novel yeasts from mangrove and coral reef ecosystems. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 60(8):1978–1984.

Tahany M.A. Abd El-Rahman, Nagwa A. Tharwat, Sayed M.S. Abo ElSouad, Ahmed A. El-Beih & Ahmed I. El-Diwany (2020): Biological activities and variation of symbiotic fungi isolated from Coral reefs collected from Red Sea in Egypt, *Mycology*.

Tanaka, A., Christensen, M. J., Takemoto, D., Park, P., & Scott, B. (2006). Reactive Oxygen Species Play a Role in Regulating a Fungus–Perennial Ryegrass Mutualistic Interaction. In *The Plant Cell* (Vol. 18, Issue 4, pp. 1052–1066). Oxford University Press (OUP).

Tedersoo, L., Bahram, M., Põlme, S., Kõljalg, U., Yorou, N. S., Wijesundera, R., Villarreal Ruiz, L., Vasco-Palacios, A. M., Thu, P. Q., Suija, A., Smith, M. E., Sharp, C., Saluveer, E., Saitta, A., Rosas, M., Riit, T., Ratkowsky, D., Pritsch, K., Põldmaa, K., Piepenbring, M., ... Abarenkov, K. (2014). Fungal biogeography. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* (New York, N.Y.), 346(6213), 1256688.

Tehler, A., ERTZ, D., & Irestedt, M. (2013). The genus *Dirina* (Roccellaceae, Arthoniales) revisited. *The Lichenologist*, 45(4), 427–476.

Thome, P. E., Rivera-Ortega, J., Rodríguez-Villalobos, J. C., Cerqueda-García, D., Guzmán-Urieta, E. O., García-Maldonado, J. Q., et al. (2021). Local dynamics of a white syndrome outbreak and changes in the microbial community associated with colonies of the scleractinian brain coral *Pseudodiploria strigosa*.

Thurber, R.V., Willner-Hall, D., Rodriguez-Mueller, B., Desnues, C., Edwards, R.A., Angly, F., et al. (2009) Metagenomic analysis of stressed coral holobionts. *Environ Microbiol* 11: 2148–2163

Tindall-Jones, B., Cunliffe, M., & Christmas, N. (2023). Lichen zonation on UK rocky seashores: a trait-based approach to delineating marine and maritime lichens. In *The Lichenologist* (Vol. 55, Issue 2, pp. 91–99). Cambridge University Press (CUP).

Todd, J. D., Curson, A. R. J., Dupont, C. L., Nicholson, P., & Johnston, A. W. B. (2009). The dddP gene, encoding a novel enzyme that converts dimethylsulfoniopropionate into dimethyl sulfide, is widespread in ocean metagenomes and marine bacteria and also occurs in some Ascomycete fungi. Wiley.

Toledo-Hernández, C., Zuluaga-Montero, A., Bones-González, A., Rodríguez, J. A., Sabat, A. M., & Bayman, P. (2008). Fungi in healthy and diseased sea fans (*Gorgonia ventalina*): Is *Aspergillus sydowii* always the pathogen? *Coral Reefs*, 27(3), 707-714.

Trisuwan, K., Rukachaisirikul, V., Sukpondma, Y., Preedanon, S., Phongpaichit, S., & Sakayaroj, J. (2009). Pyrone derivatives from the marine-derived fungus *Nigrospora* sp. PSU-F18. In *Phytochemistry* (Vol. 70, Issue 4, pp. 554–557). Elsevier BV.

Ulloa Ulloa, C., Acevedo-Rodríguez, P., Beck, S., Belgrano, M. J., Bernal, R., Berry, P. E., ... Jørgensen, P. M. (2017). An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas. *Science* (New York, N.Y.), 358(6370), 1614–1617.

van Hooidonk, R., Maynard, J. A., Manzello, D., & Planes, S. (2013). Opposite latitudinal gradients in projected ocean acidification and bleaching impacts on coral reefs. In *Global Change Biology* (Vol. 20, Issue 1, pp. 103–112). Wiley.

W. Xu, Guo, S., Gong, L., Alias, S. A., Pang, K.-L., & Luo, Z.-H. (2018). Phylogenetic survey and antimicrobial activity of cultivable fungi associated with five scleractinian coral species in the South China Sea. *Botanica Marina*, 61(1), 75–84.

Wainwright B.J., Zahn G.L., Spalding H.L., Sherwood A.R., Smith C.M., Amend, A.S. (2017). Fungi associated with mesophotic macroalgae from the 'Au'au Channel, west Maui are differentiated by host and overlap terrestrial communities. *PeerJ* 5:e3532.

Walker, B., Noren, H., Brunelle, A., and Buckley, S. (2020). SE FL ECA Reef-Building-Coral Disease Intervention and Preparation for Restoration: Final Report. Miami, FL: Florida DEP.

Wang F, Sethiya P, Hu X et al. Transcription in fungal conidia before dormancy produces phenotypically variable conidia that maximize survival in different environments. *Nat Microbiol* 2021a;6:1066–81.

Wang, L., Huang, X., Ma, F. et al. Role of *Rhizophagus irregularis* in alleviating cadmium toxicity via improving the growth, micro- and macroelements uptake in *Phragmites australis*. *Environ Sci Pollut Res* 24, 3593–3607 (2017).

Wang, Q., Garrity, G. M., Tiedje, J. M., & Cole, J. R. (2007). Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and environmental microbiology*, 73(16), 5261–5267.

Wangpraseurt, D., Wentzel, C., Jacques, S. L., Wagner, M., & Köhl, M. (2017). In vivo imaging of coral tissue and skeleton with optical coherence tomography. In *Journal of The Royal Society Interface* (Vol. 14, Issue 128, p. 20161003). The Royal Society.

- Watkinson, S. C. (2016). Physiology and Adaptation. En *The Fungi* (pp. 141-187). Elsevier.
- Watkinson, S. C., Boddy, L., & Money, N. P. (2016). *The fungi* (3d edition). Elsevier, Academic Press.
- Wegley, L., Edwards, R., Rodriguez-Brito, B., Liu, H., & Rohwer, F. (2007). Metagenomic analysis of the microbial community associated with the coral *Porites astreoides*. *Environmental Microbiology*, 9(11), 2707-2719.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) *PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications*, pp. 315-322. Academic Press, New York.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag.
- Xu, L., Meng, W., Cao, C., Wang, J., Shan, W., Wang, Q., 2015. Antibacterial and antifungal compounds from marine fungi. *Mar. Drugs* 13, 3479–3513.
- Yarden, O. (2014) Fungal association with sessile marine invertebrates. *Front. Microbiol.* 5, 228.
- Yoch D. C. (2002). Dimethylsulfoniopropionate: Its Sources, Role in the Marine Food Web, and Biological Degradation to Dimethylsulfide. *Appl. Environ. Microbiol.* 68 (12), 5804–5815.
- Zhang, J., Kobert, K., Flouri, T., & Stamatakis, A. (2014). PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End reAd mergeR. *Bioinformatics*, 30(5), 614-620.