

Bacterias asociadas a octocorales y corales escleractinios con potencial patógeno y probiótico

Hard and soft coral-associated bacteria with pathogenic and probiotic potential

Avila-Castro, E.¹ , Rodríguez-Zaragoza, F. A.² , López-Cisneros, M. E.²,
Galván-Villa, C. M.² , López-Pérez, A.³ , Godínez-Domínguez, E.⁴ ,
Olivos-Ortiz, A.⁵ , Hernández-Zulueta, J.^{2*} 

¹ Investigadora Posdoctoral (SECIHTI) asociada al Laboratorio de Microbiología, Instituto de Fisiología Celular, Departamento de Biología Celular y Molecular, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Camino Ramón Padilla Sánchez No. 2100, Nextipac, Zapopan, Jalisco, CP 45110, México.

² Laboratorio de Ecología, Conservación y Taxonomía (LEMITAX) del Departamento de Ecología, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Camino Ramón Padilla Sánchez No. 2100, Nextipac, Zapopan, Jalisco, CP 45110, México.

³ Laboratorio de Arrecifes y Biodiversidad (ARBIOLAB), Departamento de Hidrobiología, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Ciudad de México 09340, México

⁴ Departamento para el Desarrollo Sustentable de Zonas Costeras, Centro Universitario de la Costa Sur, Universidad de Guadalajara, San Patricio Melaque, Jalisco, México; egodinez@gmail.com

⁵ Facultad de Ciencias Marinas, Universidad de Colima, Manzanillo, Colima 28868, México

⁶ Laboratorio de Microbiología, Instituto de Fisiología Celular, Departamento de Biología Celular y Molecular, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Camino Ramón Padilla Sánchez No. 2100, Nextipac, Zapopan, Jalisco, CP 45110, México.



Please cite this article as/Como citar este artículo: Avila-Castro, E., Rodríguez-Zaragoza, F. A., López-Cisneros, M. E., Galván-Villa, C. M., López-Pérez, A., Godínez-Domínguez, E., Olivos-Ortiz, A., Hernández-Zulueta, J. (2025). Hard and soft coral-associated bacteria with pathogenic and probiotic potential. *Revista Bio Ciencias*, 12, e1890. <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1890>

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: January 22th 2025.

Accepted/Aceptado: August 21th 2025.

Available on line/Publicado: September 03th 2025.

RESUMEN

Los microorganismos asociados a los arrecifes de coral desempeñan un papel fundamental en la salud y supervivencia de los corales. El objetivo de este estudio fue identificar aislados bacterianos de difícil crecimiento, asociados a los octocorales *Carrija riisei* y *Leptogorgia alba*, y corales hermatípicos *Pocillopora damicornis* y *Pocillopora verrucosa*. Los aislados se identificaron mediante la secuenciación del rRNA16S y se identificaron 18, entre ellas, varias bacterias patógenas (*Vibrio* sp., *Grimontia indica* y *Pseudoalteromonas piratica*). Además, se identificaron aislados asociados a la inhibición de patógenos (*Ruegeria profunda*, *Ruegeria conchae*, *Pseudoalteromonas luteoviolacea* y *Pseudoalteromonas gelatinilytica*). Estos hallazgos muestran la vulnerabilidad de los organismos marinos a los cambios microbianos y proporcionan información sobre sus respuestas al estrés ambiental.

PALABRAS CLAVE: Arrecifes de coral, bacterias cultivables, microorganismos, octocorales, Pacífico Oriental.

*Corresponding Author:

Joice Hernández-Zulueta. Laboratorio de Microbiología, Instituto de Fisiología Celular, Departamento de Biología Celular y Molecular, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Camino Ramón Padilla Sánchez No. 2100, Nextipac, Zapopan, Jalisco, CP 45110, México. Teléfono: (333) 777 1150.

Email: joicye.hernandez@academicos.udg.mx

ABSTRACT

Microorganisms associated with coral reefs play a critical role in coral health and survival. This study aimed to identify difficult-to-culture bacterial isolates associated with the octocorals *Carijoa riisei* and *Leptogorgia alba*, as well as the hermatypic corals *Pocillopora damicornis* and *Pocillopora verrucosa*. Bacterial isolates were identified through 16S rRNA sequencing, resulting in the identification of 18 strains, including several pathogenic bacteria (*Vibrio* sp., *Grimontia indica*, and *Pseudoalteromonas piratica*). Additionally, isolates associated with pathogen-inhibiting properties (*Ruegeria profundii*, *Ruegeria conchae*, *Pseudoalteromonas luteoviolacea*, and *Pseudoalteromonas gelatinilytica*) were identified. These findings highlight the vulnerability of marine organisms to microbial shifts and provide insight into their responses to environmental stress.

KEY WORDS: Coral reefs, culturable bacteria, microorganisms, octocorals, Eastern Pacific.

Introducción

Los arrecifes de coral se encuentran entre los ecosistemas más biodiversos y productivos del planeta. Albergan aproximadamente el 25 % de la biodiversidad marina (Spalding *et al.*, 2001; Hughes *et al.*, 2010; Carlson *et al.*, 2024). El holobionte coralino es un sistema complejo y diverso que incluye Dinoflagelados, bacterias, hongos, arqueas, algas endofíticas, protistas y virus—representantes microbianos de los tres dominios de la vida—que establecen interacciones mutualistas con el huésped, desempeñando un papel vital en la productividad y homeostasis de los corales (Bourne *et al.*, 2016; Peixoto *et al.*, 2021; Mohamed *et al.*, 2023; He *et al.*, 2024). En particular, los corales hermatípicos y los octocorales son componentes esenciales de estos ecosistemas, formando relaciones intrincadas con sus microorganismos simbios (Rosenberg *et al.*, 2007; O'Brien *et al.*, 2020; Xiang *et al.*, 2022). Por lo tanto, es evidente que ciertas bacterias simbióticas representan un grupo determinante dentro de estos corales y octocorales (Lema *et al.*, 2012; Hernández-Zulueta *et al.*, 2016; Grottoli *et al.*, 2018; Hoffmann & Panknin, 2020; Mohamed *et al.*, 2023). Numerosos estudios han documentado el rol que desempeñan los grupos bacterianos asociados a corales (Bourne *et al.*, 2016; van Oppen & Medina, 2020; Samper *et al.*, 2025). Por ejemplo, algunas bacterias participan en el ciclo de materia orgánica e inorgánica, que puede ser escasa en los sistemas arrecifales. Las bacterias diazotróficas, en particular, han demostrado mejorar la fijación de nitrógeno (Thompson *et al.*, 2015). Las comunidades bacterianas simbióticas también protegen al huésped contra la luz UV extrema en verano (Samper *et al.*, 2025) y actúan como una barrera protectora natural al sintetizar agentes antimicrobianos (McDevitt-Irwin *et*

al., 2017). De hecho, se observa una mayor dinámica y flexibilidad en los grupos bacterianos con actividad antimicrobiana asociados a corales cuando estos están expuestos a estrés por enfermedades, lo que genera una respuesta rápida a la defensa contra patógenos (Bourne *et al.*, 2016; van Oppen & Medina, 2020; He *et al.*, 2024).

La composición de los ensamblajes bacterianos está influenciada por diversos factores que regulan la estructura de la comunidad microbiana, incluyendo la especificidad del huésped hacia ciertos grupos bacterianos (van de Water *et al.*, 2018; Freire *et al.*, 2019). El resto de la composición bacteriana está regulada por factores ambientales locales (como temperatura, pH, concentración de oxígeno y nutrientes) (Bourne *et al.*, 2016; van Oppen & Medina, 2020), así como por interacciones competitivas entre comunidades bacterianas (Zhang *et al.*, 2020; Cheng *et al.*, 2023). La caracterización de las comunidades bacterianas asociadas a invertebrados marinos proporciona información valiosa sobre los roles ecológicos de estos microorganismos (Rappé & Giovannoni, 2003; Falkowski *et al.*, 2008; Ameen *et al.*, 2021). Sin embargo, el estudio de bacterias en condiciones de laboratorio sigue siendo un desafío significativo, ya que solo el 0.01-0.1 % de las células bacterianas marinas producen colonias utilizando técnicas estándar de cultivo (Kogure *et al.*, 1979; Caycedo Lozano *et al.*, 2021). Esto se debe a las limitaciones de los métodos técnicos actuales. No obstante, el estudio de bacterias cultivables nos permite explorar su vasta diversidad, contribuir al conocimiento biológico fundamental y descubrir nuevos compuestos bioactivos con potenciales aplicaciones biotecnológicas (Kogure *et al.*, 1979; Overmann *et al.*, 2017).

Los medios de cultivo proporcionan nutrientes esenciales para el crecimiento bacteriano, como fuentes de carbono, nitrógeno y sales minerales (Bonnet *et al.*, 2019; Caycedo Lozano *et al.*, 2021). Sin embargo, en su entorno natural, las bacterias tienen acceso a una gran variedad de recursos. Uno de los principales desafíos en el aislamiento bacteriano es interrumpir las interacciones simbióticas o cooperativas entre microorganismos que comparten factores de crecimiento metabólicos, agentes quelantes o moléculas de señalización (Lewis *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2024). Por lo tanto, la generación de aislados bacterianos es esencial para obtener información crítica sobre las comunidades microbianas asociadas a corales y octocorales del Pacífico Central Mexicano (MCP, por sus siglas en inglés). En este estudio, nos enfocamos en aislados bacterianos que no pueden criopreservarse debido a su incapacidad para volver a crecer en medios de cultivo.

Material y Métodos

Obtención de aislados bacterianos

Las bacterias fueron aisladas de los octocorales *Carijoa riisei* y *Leptogorgia alba*, así como de los corales pétreos *Pocillopora damicornis* y *P. verrucosa*. Las muestras fueron recolectadas mediante buceo técnico en varios sitios del MCP (Tabla 1), durante el fenómeno de El Niño (septiembre-noviembre de 2023). La temperatura promedio registrada fue de 30.8 °C y la profundidad de muestreo osciló entre 6 y 10 metros. Para los octocorales, se recolectaron

fragmentos de rama de ~2-3 cm de longitud de tres colonias diferentes por especie. Las muestras se almacenaron en hielo a 4 °C para su transporte al Laboratorio de Ecología, Conservación y Taxonomía (LEMITAX) de la Universidad de Guadalajara, México. Los fragmentos se trituraron con mortero y se colocaron en tubos estériles con agua de mar. Posteriormente, las muestras se sometieron a agitación constante en intervalos de un minuto. La estrategia de cultivo se enfocó en recuperar bacterias heterótrofas marinas, sembrándolas en medio Zobell marino (1 g de levadura, 5 g de bactopectona, 1 mL de cloruro férrico al 1 %, 13 g de agar en 1 L de agua de mar filtrada a 0.22 µm) e incubándolas (LSIS-B2V/ICV55-INCUCCELL V) durante 2-5 días a 28 °C. Para los corales hermatípicos, se recolectaron fragmentos de ~3-5 cm de tres colonias por especie. El procesamiento se realizó *in situ* siguiendo la metodología de Lampert *et al.* (2016) con modificaciones. El mucus se recolectó con hisopos estériles y se sembró en medio Zobell marino, en un área estéril delimitada por mecheros Bunsen. Las placas se mantuvieron a temperatura ambiente durante 48 horas y luego se refrigeraron para su transporte al laboratorio.

Durante la purificación bacteriana, se seleccionaron únicamente los aislados que mostraron crecimiento en el subcultivo inicial pero no en cultivos posteriores. De acuerdo a la metodología propuesta por Gerhardt *et al.* (1981), se seleccionaron colonias con diferencias morfológicas (p. ej. forma, margen, textura, pigmentación y apariencia). Los subcultivos se realizaron mediante dos estrategias: Picado con palillo o estriado directo de la colonia. Para el primer caso, las células se inocularon en tubos con 2 mL de medio líquido Zobell marino [levadura (1 g), bactopectona (5 g) y cloruro férrico al 1 % (1 mL) en 1 L de agua de mar filtrada (0.22 µm)], incubándose con agitación constante. Para la segunda estrategia, las colonias fueron seleccionadas y tomadas con asa estéril, se resembraron en placas con medio Zobell marino sólido. En ambos casos, los cultivos se incubaron 48 horas a 28 °C o hasta observar crecimiento bacteriano.

Identificación molecular

La identificación bacteriana se realizó mediante extracción de DNA genómico con el kit “DNeasy Blood and Tissue” (QIAGEN®). El gen rRNA 16S se amplificó usando reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) usando los cebadores a una concentración de 10 mM: 27F (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3') y 1492R (5'-TAC CTT GTT ACG ACT T-3') (Frank *et al.*, 2008). Todas las reacciones de PCR fueron realizadas usando 20 µg/mL de DNA en un volumen final de 25 µL con el kit DreamTaq Green Master Mix (2X) (#K1081, Thermo Scientific®) bajo las siguientes condiciones: 1) Desnaturalización inicial a 94 °C por 4 min; 2) 35 ciclos a 94 °C por 30 s, 60 °C por 45 s y 72 °C por 45 s; 3) Extensión final a 72 °C por 10 min. Se utilizó agua destilada como control negativo. Se verificó la presencia de amplicones de 1500 pb (regiones V1-V9 del rRNA 16S) mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 % teñido con SYBR® Safe. Los fragmentos se purificaron con el kit “GenElute™ Gel Extraction” (NA1111, Sigma-Aldrich®) y se secuenciaron con el kit TaqBigDye Terminator (Perkin Elmer Applied Biosystems, EE.UU.), purificado con etanol y visualizados con en SeqStudio Genetic Analyzer en el Laboratorio Nacional de Identificación y Caracterización Vegetal (LaniVeg), Centro Universitario de Ciencias Biológicas

y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara. Las secuencias obtenidas (~1400 pb) se analizaron con el programa Chromas® (Technelysium, DNA Sequencing Software) y se alinearon mediante BLAST en la base de datos del GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>). Para identificación taxonómica se consideró un porcentaje de similitud de la secuencia por encima de 98 % para la especie y una similitud de mínimo 90 % para el género.

Resultados y Discusión

Un total de 18 aislados bacterianos no crecieron en subcultivos posteriores. De estos, dos provenían de *C. riisei*, seis de *L. alba*, ocho de *P. damicornis* y dos de *P. verrucosa*. Inicialmente, los aislados mostraron crecimiento en un medio de cultivo sólido (Figura 1A). Tras el proceso de aislamiento solo se observó un número reducido de colonias (Figura 1B). A pesar de los intentos por mejorar el crecimiento celular mediante cultivos líquidos, resiembras o el aumento de la temperatura de incubación a 35 °C con periodos extendidos a 72 horas, no se logró un mayor crecimiento. Se probaron medios enriquecidos adicionales, como agar Tripticasa de Soya (TSA), Luria-Bertani (LB) y medios selectivos como agar MacConkey y agar Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarosa (TCBS). Sin embargo, ningún medio favoreció el crecimiento bacteriano. Cabe señalar que, estos resultados forman parte de una investigación de la que se obtuvieron aproximadamente 600 aislados bacterianos asociados a los organismos evaluados y cuya caracterización está en curso.

Solo los aislados que no mostraron crecimiento en subcultivos fueron identificados a nivel molecular para preservar las células viables restantes (Tabla 1). Se identificaron *Ruegeria profunda* y un aislado no identificado (CrS1SC.3) asociados a *C. riisei*. En *L. alba* se detectaron los géneros *Grimontia*, *Pseudoalteromonas*, *Shewanella*, *Ruegeria* y *Vibrio*. En los corales escleractinios, *P. damicornis* albergó bacterias de los géneros *Alteromonas*, *Fictibacillus* y *Pseudoalteromonas*, mientras que *Chromohalobacter israelensis* y *Shewanella seohaensis* se aislaron de *P. verrucosa*.

Este estudio describe a las bacterias asociadas a octocorales y corales hermatípicos que no pudieron sembrarse ni criopreservarse, denominadas “bacterias difíciles de cultivar” (Vartoukian *et al.*, 2016). El cultivo bacteriano requiere condiciones específicas (p. ej. nutrientes, agua, fuentes de carbono y nitrógeno, y sales minerales) para garantizar su viabilidad (Caycedo Lozano *et al.*, 2021). Cocolin (2010) señala que los medios de cultivo enriquecidos, utilizados para el crecimiento en microbiología, pueden alterar la composición de la microbiota original, favoreciendo especies dominantes y subrepresentando a poblaciones menos abundantes o estresadas. Factores ambientales como fluctuaciones de temperatura, disponibilidad de nutrientes, competencia, y especificidad del huésped son variables claves que determinan la presencia de grupos bacterianos particulares (Zhang *et al.*, 2020). Estos factores, también contribuyen con el desarrollo de células bacterianas no cultivables, ya que replicar estas condiciones en laboratorio es casi imposible (Zhang *et al.*, 2024). Con el propósito de sobrevivir a ambientes extremos o condiciones de estrés, las bacterias pueden entrar a un estado de latencia o “viables pero no cultivables” (Shleevea *et al.*, 2011; Vartoukian *et al.*, 2016), lo que limita la evaluación de la

biodiversidad real. Por ello, la información reportada en este estudio debe complementarse con la descripción del resto de los aislados bacterianos asociados a las especies evaluadas. Adicional a ello, estudios de análisis de amplicones, como metabarcoding, proporcionaría una caracterización complementaria de las comunidades bacterianas asociadas.

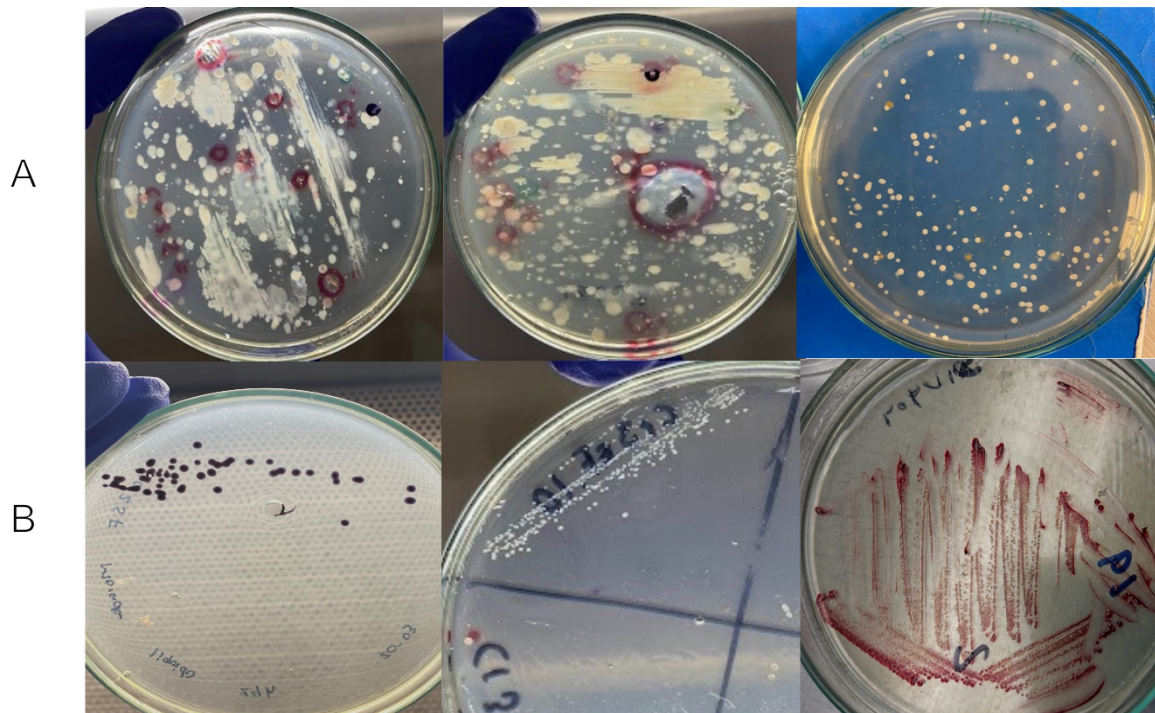


Figura 1. Aislados bacterianos asociados a los corales.

A) Aislados bacterianos de la muestra inicial. B) Subcultivos con poco crecimiento de colonias morfológicamente diferentes.

Fuente: propia.

Tabla 1. Aislados bacterianos presentes en *C. riisei*, *L. alba*, *P. damicornis* y *P. verrucosa*.

Código del aislado	Organismo del que fue aislado	Sitio de colecta	Especies bacterianas	NCBI-GenBank número de acceso SUB14676057
CrS1SC.3	<i>C. riisei</i>	Manzanillo, Colima	S/I	-
CrJ1SC.1	<i>C. riisei</i>	Manzanillo, Colima	² <i>Ruegeria profund</i>	PQ222729
LS1SC.2	<i>L. alba</i>	Manzanillo, Colima	⁴ <i>Shewanella submarina</i>	PQ222723
LJ2SC.3	<i>L. alba</i>	Manzanillo, Colima	³ <i>Vibrio</i> sp.	PQ222724
LS2SC.4	<i>L. alba</i>	Manzanillo, Colima	³ <i>Grimontia indica</i>	PQ222725
LJ1SC.1	<i>L. alba</i>	Manzanillo, Colima	³ <i>Pseudoalteromonas piratica</i>	PQ222726
LJ1SC.3	<i>L. alba</i>	Manzanillo, Colima	² <i>Ruegeria conchae</i>	PQ222727
LJ1SC.5	<i>L. alba</i>	Manzanillo, Colima	² <i>Ruegeria conchae</i>	PQ222728
S1D4.9	<i>P. damicornis</i>	Bahía Chamela, Jalisco	¹ <i>Pseudoalteromonas rubra</i>	PQ222731
S2D2.5	<i>P. damicornis</i>	Bahía Chamela, Jalisco	² <i>Pseudoalteromonas luteoviolacea</i>	PQ222732
S8D1.7	<i>P. damicornis</i>	Bahía Chamela, Jalisco	² <i>Pseudoalteromonas gelatinilytica</i>	PQ222733
S8D1.8	<i>P. damicornis</i>	Bahía Chamela, Jalisco	¹ <i>Alteromonas abrolhosensis</i>	PQ222734
S6D2.9	<i>P. damicornis</i>	Cuastecomatitos, Jalisco	³ <i>Pseudoalteromonas piratica</i>	PQ222736
S6D2.6	<i>P. damicornis</i>	Cuastecomatitos, Jalisco	¹ <i>Pseudoalteromonas phenolica</i>	PQ222737
S1D1B.7	<i>P. damicornis</i> *	Cuastecomatitos, Jalisco	S/I	-
S8D3B.8	<i>P. damicornis</i> *	Carrizales, Colima	⁴ <i>Fictibacillus solisalsi</i>	PQ222735
S1V6.4	<i>P. verrucosa</i>	Carrizales, Colima	¹ <i>Chromohalobacter israelensis</i>	PQ222730
S8V2B.2	<i>P. verrucosa</i> *	Cuastecomatitos, Jalisco	⁴ <i>Shewanella seohaensis</i>	PQ222738

*Corresponde a los corales que durante el muestreo mostraron blanqueamiento. Superíndice indica la actividad reportada: 1) Habilidad antimicrobiana. 2) Habilidad antimicrobiana frente a patógenos relacionados a enfermedades de coral. 3) Patógenos relacionados a enfermedades de coral. 4) No hay reportes relacionados con actividad antimicrobiana o patogénica. S/I: Sin identificar.

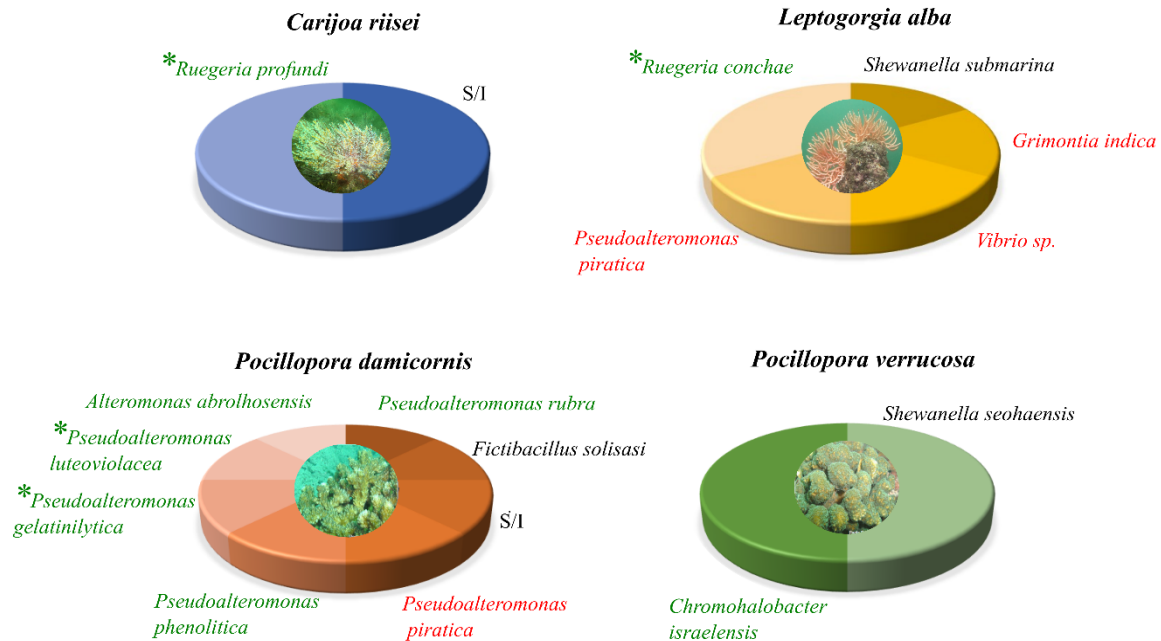


Figura 2. Aislados bacterianos asociados a *Carijoa riisei*, *Leptogorgia alba*, *Pocillopora damicornis* y *P. verrucosa*.

Nombres en verde indican las especies relacionadas con capacidad antimicrobiana. * Especies relacionadas a la defensa frente a patógenos de enfermedades de coral. Nombres en rojo señalan especies bacterianas relacionadas a enfermedades de coral. Nombres en negro representa las especies que no están relacionadas a actividad antimicrobiana o patogénica.

Fuente: propia.

El fenómeno de El Niño-Oscilación del Sur (ENOS) de 2023 se consideró un evento excepcional, caracterizado por perturbaciones atmosféricas inusuales y aumentos significativos de las temperaturas de la superficie del mar (Pérez- de Silva *et al.*, 2022; Peng *et al.*, 2024). Estos cambios térmicos se han identificado como un factor importante que contribuye al blanqueamiento del coral (Reimer *et al.*, 2024) y se ha reportado que alteran la abundancia y composición de los microorganismos asociados al coral, en particular los patógenos (Gibbin *et al.*, 2019). En cuanto a los aislados bacterianos de los que se informa en este estudio, parece probable que este evento indujera estrés en los corales y sus ensamblajes bacterianos asociados. Esto promovió interacciones específicas que dificultaron el crecimiento bacteriano e impidieron que muchas bacterias crecieran en medios de cultivo de laboratorio.

Vibrio y *Pseudoalteromonas* representan uno de los grupos bacterianos más prevalentes asociados a las enfermedades de los corales, como demuestran numerosos estudios (Tout *et al.*, 2015; Gibbin *et al.*, 2019). Está documentado que especies como *Vibrio coralliilyticus*, *Vibrio shilonii* y *Pseudoalteromonas piratica* son patógenos que causan pérdida de tejido en los corales,

contribuyendo así al desarrollo de enfermedades como el síndrome blanco y la enfermedad de la banda amarilla (Beurmann *et al.*, 2017; Ben-Haim *et al.*, 2003 a,b; Jayasreea *et al.*, 2021). Se ha observado una correlación entre la presencia de *V. coralliilyticus* y las elevadas temperaturas de la superficie del mar en colonias de *P. damicornis*. Simultáneamente, en los mares Atlántico y Mediterráneo, también se ha informado de enfermedades bacterianas que afectan a octocorales, causadas por *V. coralliilyticus* (Weil *et al.*, 2017). Además, *Grimontia indica* aislada de *L. alba* alberga genes de patogenicidad como OmpU, que están relacionados con la virulencia de las cepas de *Vibrio*, lo que sugiere su potencial como patógeno oportunista (Singh *et al.*, 2014). Sin embargo, el presente estudio identificó la presencia de estos grupos bacterianos en el octocoral *L. alba* y el coral hermatípico *P. damicornis*. A pesar de la presencia de estos géneros, no se observaron lesiones visibles relacionadas con la enfermedad en los corales hospedadores.

Por otro lado, se han identificado especies con propiedades antimicrobianas y algicidas, como *Alteromonas abrolhosensis*, *Pseudoalteromonas phenolica*, *P. rubra* y *Chromohalobacter israelensis*, en asociación con corales pétreos del género *Pocillopora* (Isnansetyo *et al.*, 2003; John *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021; Jia *et al.*, 2023). Se ha demostrado que algunas de estas especies pueden inhibir directamente los patógenos responsables de las enfermedades de los corales. La presencia de estas bacterias asociadas a *Pocillopora damicornis* y *P. verrucosa* indica que estos corales poseen un conjunto bacteriano que puede utilizarse como barrera protectora contra otros agentes infecciosos. Por ejemplo, se ha demostrado que *Ruegeria conchae* y *R. profunda* impiden el crecimiento de patógenos de *Vibrio* (Miura *et al.*, 2019). Específicamente, se ha demostrado que *R. profunda* exhibe propiedades probióticas que suprimen la proliferación de *V. coralliilyticus*, reduciendo así su patogenicidad, mejorando la homeostasis del microbioma y aumentando la tolerancia del holobionte al estrés inducido por patógenos (Xu *et al.*, 2024). Por lo que la presencia del grupo *Ruegeria* en asociación con *C. riisei* y *L. alba* puede desempeñar un papel fundamental en la protección frente a patógenos, la regulación del microbioma y la contribución a la sostenibilidad de los octocorales estudiados.

Pseudoalteromonas luteoviolacea y *P. gelatinilytica*, aisladas de *P. damicornis*, presentan actividad antimicrobiana contra patógenos de *Vibrio*, incluidos *V. coralliilyticus* y *V. alginolyticus* (Vidal-Dupiol *et al.*, 2011; Gibbin *et al.*, 2019; Fazeli *et al.*, 2021; Jayasreea *et al.*, 2021). El aislamiento de estas bacterias en colonias de coral visualmente sanas sugiere que pueden desempeñar un papel importante en la protección del hospedador frente a patógenos como *P. piratica*, que también está asociado a *P. damicornis*. En cambio, bacterias como *Fictibacillus solisalsi* y *Shewanella seohaensis*, identificadas en colonias de coral blanqueadas, no tienen ninguna asociación conocida con el blanqueamiento, la patogenicidad o los efectos probióticos. Esto subraya la necesidad imperiosa de perfeccionar las metodologías de aislamiento bacteriano, facilitando así una comprensión más profunda de la función ecológica de las especies clave en los procesos de enfermedad y sus repercusiones en la salud de los corales.

Conclusiones

El aislamiento de bacterias cultivables es imprescindible para comprender las funciones vitales de los microorganismos en el medio ambiente, con el fin de identificar especies bacterianas que sirvan como bioindicadores de enfermedades o faciliten la regulación de los microbiomas de organismos y sustratos marinos. En este estudio, observamos la presencia de patógenos conocidos como *Pseudoalteromonas piratica* y especies de *Vibrio*, asociados al octocoral *L. alba*. Además, confirmamos la presencia de patógenos en *P. damicornis* en respuesta al aumento de la temperatura del mar. Además, se registró la presencia de especies bacterianas probióticas, que poseen propiedades antimicrobianas contra los patógenos antes mencionados, tanto en octocorales como en corales escleractinios, incluyendo *Ruegeria conchae*, *R. profunda*, *Pseudoalteromonas luteoviolacea* y *P. gelatinilytica*. Es imprescindible reconocer la importancia de identificar las bacterias no cultivables, ya que ello facilita la consideración de los posibles requisitos que deberían tenerse en cuenta para la futura caracterización de las comunidades bacterianas. Este estudio refuerza la idea de que el aumento de la temperatura del mar está teniendo un efecto perjudicial sobre los organismos marinos. Se recomienda que en futuros estudios se considere la utilización de un enfoque integrado de análisis de amplicones del gen ribosómico 16S rRNA (metabarcoding) y métodos microbiológicos tradicionales, como aislamiento y el cultivo. Es esencial estudiar la diversidad de microorganismos, incluidos los no cultivables, para conocer más a fondo la plasticidad de estos conjuntos bacterianos en respuesta a los cambios ambientales, así como para averiguar el verdadero potencial de estos microorganismos como agentes reguladores que pueden favorecer la supervivencia de sus organismos huéspedes frente a las amenazas.

Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo: E.A.C. desarrollo metodológico: E.A.C., M.E.L.C; validación experimental: E.A.C., M.E.L.C; análisis de resultados: E.A.C., J.H.Z; gestión de datos: E.A.C; redacción y preparación del manuscrito: E.A.C., J.H.Z; redacción, revisión y edición: M.E.L.C., F.A.R.Z., C.M.G.V., A.L.P., E.G.D., A.O.O. Adquisición de fondos: J.H.Z., F.A.R.Z., C.M.G.V., A.L.P.

“Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo”

Financiación

“Esta investigación no ha recibido financiación externa”

Declaración de consentimiento informado

“Se obtuvo el consentimiento informado de todos los sujetos implicados en el estudio”

Agradecimientos

“Los autores dan las gracias a los estudiantes que colaboraron en la toma de muestras”.

Conflicto de intereses

“Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses”

Referencias

- Ameen, F., AlNadhari, S., & Al-Homaidan, A. A. (2021). Marine microorganisms as an untapped source of bioactive compounds. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28, 224-231. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.052>
- Ben-Haim, Y., Thompson, F. L., Thompson, C. C., Cnockaert, M. C., Hoste, B., Swings, J., & Rosenberg, E. (2003a). *Vibrio coralliilyticus* sp. nov., a temperature-dependent pathogen of the coral *Pocillopora damicornis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 309-315. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02402-0>
- Ben-Haim, Y., Zicherman-Keren, M., & Rosenberg, E. (2003b). Temperature-regulated bleaching and lysis of the coral *Pocillopora damicornis* by the novel pathogen *Vibrio coralliilyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 4236-4242. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.7.4236-4242.2003>
- Beurmann, S., Ushijima, B., Svoboda, C. M., Videau, P., Smith, A. M., Donachie, S. P., Aeby, G. S., & Callahan, S. M. (2017). *Pseudoalteromonas piratica* sp. nov., a budding, prosthecate bacterium from diseased *Montipora capitata*, and emended description of the genus *Pseudoalteromonas*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67, 2683-2688. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001995>
- Bonnet, M., Lagier, J. C., Raoult, D., & Khelaifia, S. (2019). Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes New Infect*, 34, 100622. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100622>
- Bourne, D. G., Morrow, K. M., & Webster, N. S. (2016). Insights into the coral microbiome: underpinning the health and resilience of reef ecosystems. *Annual Review of Microbiology*, 70, 317-40. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-102215-095440>
- Carlson, R. R., Crowder, L. B., Martin, R. E., & Asner, G. P. (2024). The effect of reef morphology on coral recruitment at multiple spatial scales. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 121, e2311661121. <https://doi.org/10.1073/pnas.2311661121>
- Caycedo Lozano, L., Ramírez, L. C. C., & Suárez, D. M. T. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova*, 19, 49-94. <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>
- Cheng, K., Tong, M., Cai, Z., Jong, M. C., Zhou, J., & Xiao, B. (2023). Prokaryotic and eukaryotic microbial communities associated with coral species have high host specificity in the South China Sea. *Science of the Total Environment*, 867, 161185. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161185>

[scitotenv.2022.161185](https://doi.org/10.1007/s12272-022-00185-5)

- Cocolin, L. S. (2010). Métodos independientes y dependientes de cultivo para estudiar y caracterizar la ecología microbiana en la fermentación vínica. *ACE: Revista de Enología*, 120, 1.
- Falkowski, P. G., Fenchel, T., & Delong, E. F. (2008). The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science*, 320, 1034-1039. <https://doi.org/10.1126/science.1153213>
- Frank, J. A., Reich, C. I., Sharma, S., Weisbaum, J. S., Wilson, B. A., & Olsen, G. J. (2008). Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. *Applied and environmental microbiology*, 74(8), 2461-2470. <https://doi.org/10.1128/AEM.02272-07>
- Fazeli, N., Naeemi, A. S., Jalali, S. A. H., & Zamani, H. (2021). Antibacterial and Antibiofilm Potential of Sea Anemone (*Stichodactyla haddoni*) Isolated *Vibrio* (*V. parahaemolyticus* and *V. alginolyticus*), and *Pseudoalteromonas* (*P. gelatinilytica* and *P. piscicida*) Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Kermanshah University of Medical Sciences*, 25, e108653. <https://doi.org/10.5812/jkums.108653>
- Freire, I., Gutner-Hoch, E., Muras, A., Benayahu, Y., & Otero, A. (2019). The effect of bacteria on planula-larvae settlement and metamorphosis in the octocoral *Rhytisma fulvum fulvum*. *PLoS One*, 14(9), e0223214. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223214>
- Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Costilow, R. N., Nester, E. W., Wood, W. A., Krieg, N. R., & Phillips, G. B. (1981). Manual of methods for general bacteriology. Washington, DC: American Society for Microbiology, pp 10.
- Gibbin, E., Gavish, A., Krueger, T., Kramarsky-Winter, E., Shapiro, O., Guiet, R., Jensen, L., Vardi, A., & Meibom, A. (2019). *Vibrio coralliilyticus* infection triggers a behavioural response and perturbs nutritional exchange and tissue integrity in a symbiotic coral. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 13, 989–1003. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0327-2>
- Grottoli, A. G., Dalcin Martins, P., Wilkins, M. J., Johnston, M. D., Warner, M. E., Cai, W. J., Melman, T. F., Hoadley, K. D., Pettay, D. T., Levas, S., & Schoepf, V. (2018). Coral physiology and microbiome dynamics under combined warming and ocean acidification. *PLoS One*, 13, e0191156. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191156>
- He, X., Zou, J., Chen, Q., Qin, X., Liu, Y., Zeng, L., & Su, H. (2024). Microbial and transcriptional response of *Acropora valida* and *Turbinaria peltata* to *Vibrio coralliilyticus* challenge: insights into corals disease resistance. *BMC microbiology*, 24(1), 288. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03438-7>
- Hernández-Zulueta, J., Araya, R., Vargas-Ponce, O., Díaz-Pérez, L., Rodríguez-Troncoso, A. P., Ceh, J., Ríos-Jara, E., & Rodríguez-Zaragoza, F. A. (2016). First deep screening of bacterial assemblages associated with corals of the Tropical Eastern Pacific. *FEMS Microbiology Ecology*, 92, fiw196. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw196>
- Hoffmann, F., & Panknin, M. (2020). Host-microbe interactions in octocoral holobionts recent advances and perspectives. *Microbiome*, 8, 1-19. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00896-4>
- Hughes, T. P., Graham, N. A. J., Jackson, J. B. C., Mumby, P. J., & Steneck, R. S. (2010). Rising to the challenge of sustaining coral reef resilience. *Trends Ecology and Evolution*, 25, 633-642. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.07.011>

- Isnansetyo, A., & Kamei, Y. (2003). MC21-A, a bactericidal antibiotic produced by a new marine bacterium, *Pseudoalteromonas phenolica* sp. nov. O-BC30T, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47, 480-488. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.2.480-488.2003>
- Jayasreea, V. S., Sobhana, K. S., Priyankaa, P., Keerthia, K. R., Jasminea, S., Ranjitha, L., Ramkumara, S., Saravanana, R., Kingsleya, H. J., Sreenatha, K. R., Georgea, R. M., Joshia, K. K., & Gopalakrishnana, A. (2021). Characterization and antibacterial activity of violacein producing deep purple pigmented bacterium *Pseudoalteromonas luteoviolacea* (Gauthier, 1982) isolated from coral reef ecosystems. *Indian Journal of Geo Marine Sciences*, 50, 620-634. <http://op.niscpr.res.in/index.php/IJMS/article/viewFile/40727/465481610>
- Jia, Y., Lu, J., Wang, M., Qin, W., Chen, B., Xu, H., & Ma, Z. (2023). Algicidal bacteria in phycosphere regulate free-living Symbiodinium fate via triggering oxidative stress and photosynthetic system damage. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 263, 115369. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115369>
- John, J., Siva, V., Kumari, R., Arya, A., & Kumar, A. (2020). Unveiling cultivable and uncultivable halophilic bacteria inhabiting Marakkanam saltpan, India and their potential for biotechnological applications. *Geomicrobiology Journal*, 37, 691-701. <https://doi.org/10.1080/01490451.2020.1764676>
- Kogure, K., Simidu, U., & Taga, N. (1979). A tentative direct microscopic method for counting living marine bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 25, 415-420. <https://doi.org/10.1139/m79-063>
- Lema, K. A., Willis, B. L., & Bourne, D. G. (2012). Corals form characteristic associations with symbiotic nitrogen-fixing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 18, 3136-44.
- Lamper, Y., Kelman, D., Dubinsky, Z., Nitzan, Y., & Hill, R. T. (2006). Diversity of culturable bacteria in the mucus of the Red Sea coral *Fungia scutaria*. *FEMS microbiology ecology*, 58(1), 99-108. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00136.x>
- Lewis, W. H., Tahon, G., Geesink, P., Sousa, D. Z., & Ettema, T. J. (2021). Innovations to culturing the uncultured microbial majority. *Nature Reviews Microbiology*, 19, 225-240. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00458-8>
- Miura, N., Motone, K., Takagi, T., Aburaya, S., Watanabe, S., Aoki, W., & Ueda, M. (2019). *Ruegeria* sp. Strains isolated from the reef-building coral *Galaxea fascicularis* inhibit growth of the temperature-dependent pathogen *Vibrio coralliilyticus*. *Marine Biotechnology*, 21, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s10126-018-9853-1>
- McDevitt-Irwin, J. M., Baum, J. K., Garren, M., & Vega Thurber, R. L. (2017). Responses of coral-associated bacterial communities to local and global stressors. *Frontiers in Marine Science*, 4, 262. <https://doi.org/10.3389/fmars>
- Mohamed, A. R., Ochsenkühn, M. A., Kazlak, A. M., Moustafa, A., & Amin, S. A. (2023). The coral microbiome: towards an understanding of the molecular mechanisms of coral-microbiota interactions. *FEMS Microbiol Reviews*, 47, fuad005. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuad005>
- O'Brien, P. A., Tan, S., Yang, C., Frade, P. R., Andreakis, N., Smith, H. A., Miller, D. J., Webster, N. S., Zhang, G., & Bourne, D. G. (2020). Diverse coral reef invertebrates exhibit patterns of phyllosymbiosis. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 14, 2211-2222. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0671-x>
- Overmann, J., Abt, B., & Sikorski, J. (2017). Present and future of culturing bacteria. *Annual*

- Review of Microbiology*, 71, 711-730. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090816-093449>
- Peixoto, R. S., Sweet, M., Villela, H. D. M., Cardoso, P., Thomas, T., Voolstra, C. R., Høj, L., Bourne, & D. G. (2021). Coral Probiotics: Premise, Promise, Prospects. *Annual Review of Animal Biosciences*, 9, 265-288. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-090120-115444>
- Peng, Q., Xie, S. P., Passalacqua, G. A., Miyamoto, A., & Deser, C. (2024). The 2023 extreme coastal El Niño: Atmospheric and air-sea coupling mechanisms. *Science Advances*, 10, eadk8646. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adk8646>
- Pérez-de Silva, C. V., Cupul-Magaña, A. L., Rodríguez-Troncoso, A. P., & Rodríguez-Zaragoza, F. A. (2022). Reef Fish assemblage in two insular zones within the Mexican Central Pacific. *Oceans*, 3, 204-217. <https://doi.org/10.3390/oceans3020015>
- Rappé, M. S., & Giovannoni, S. J. (2003). The uncultured microbial majority. *Annual Review of Microbiology*, 57(1), 369-394. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.57.090502.093703>
- Reimer, J. D., Peixoto, R. S., Davies, S. W., Traylor-Knowles, N., Short, M. L., Cabral-Tena, R. A., Burt, J. A., Pessoa, I., Banaszak, A. T., Winters, R. S., Moore, T., Schoepf, V., Kaullysing, D., Calderon-Aguilera, L. E., Worheide, G., Harding, S., Munbodhe, V., Mayfield, A., Ainsworth, T., Vardi, T., Eakin, C. M., Pratchett, M. S., & Voolstra, C. R. (2024). The Fourth Global Coral Bleaching Event: Where do we go from here?. *Coral Reefs*, 43, 1-5. <https://doi.org/10.1007/s00338-024-02504-w>
- Rosenberg, E., Kellogg, C. A., & Rohwer, F. (2007). Coral microbiology. *Oceanography*, 20, 146–154. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2007.60>
- Samper, J., Raina, J. B., Humphrey, C., Høj, L., & Bourne, D. G. (2025). Microbial processes and nutrient uptake in the coral holobiont and reef ecosystems. In *Coral Reef Microbiome* (pp. 113-130). Cham: Springer Nature Switzerland.
- Shleeva, M. O., Kudykina, Y. K., Vostroknutova, G. N., Suzina, N. E., Mulyukin, A. L., & Kaprelyants, A. S. (2011). Dormant ovoid cells of *Mycobacterium tuberculosis* are formed in response to gradual external acidification. *Tuberculosis*, 91(2), 146-154.
- Singh, A., Vaidya, B., Khatri, I., Srinivas, T. N. R., Subramanian, S., Korpole, S., & Pinnaka, A. K. (2014). *Grimontia indica* AK16T, sp. nov., isolated from a seawater sample reports the presence of pathogenic genes similar to *Vibrio* Genus. *PLoS One*, 9, e85590. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085590>
- Spalding, M. D., Ravilious, C., & Green, E. P. (2001). World atlas of coral reefs. University of California Press. <https://doi.org/10.5860/choice.39-2540>
- Thompson, J. R., Rivera, H. E., Closek, C. J., & Medina, M. (2015). Microbes in the coral holobiont: partners through evolution, development, and ecological interactions. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 4, 176. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00176>
- Tout, J., Siboni, N., Messer, L. F., Garren, M., Stocker, R., Webster, N. S., Ralph, P. J., & Seymour, J. R. (2015). Increased seawater temperature increases the abundance and alters the structure of natural *Vibrio* populations associated with the coral *Pocillopora damicornis*. *Frontiers in Microbial*, 6, 432. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00432>
- van de Water, J. A., Allemand, D., & Ferrier-Pagès, C. (2018). Host-microbe interactions in octocoral holobionts-recent advances and perspectives. *Microbiome*, 6, 1-28. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0431-6>
- van Oppen, M. J. H., & Medina, M. (2020). Coral evolutionary responses to microbial symbioses.

- Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences*, 375, 20190591. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0591>
- Vidal-Dupiol, J., Ladrière, O., Meistertzheim, A-L., Fouré, L., Adjero, M., & Mita, G. (2011). Physiological responses of the scleractinian coral *Pocillopora damicornis* to bacterial stress from *Vibrio coralliilyticus*. *Journal of Experimental Biology*, 214, 1533–45. <https://doi.org/10.1242/jeb.053165>
- Vartoukian, S. R. (2016). Cultivation strategies for growth of uncultivated bacteria. *Journal of oral biosciences*, 58(4), 143-149. <https://doi.org/10.1016/j.job.2016.08.001>
- Wang, X., Isbrandt, T., Christensen, E. Ø., Melchiorson, J., Larsen, T. O., Zhang, S., & Gram, L. (2021). Identification and verification of the prodigiosin biosynthetic gene cluster (BGC) in *Pseudoalteromonas rubra* S4059. *Microbiology Spectrum*, 9, e01171-21. <https://doi.org/10.1128/Spectrum.01171-21>
- Weil, E., Rogers, C. S., & Croquer, A. (2017). Octocoral diseases in a changing ocean. In: Rossi S, Bramanti L, Gori A, Orejas Saco del Valle C, editors. *Marine animal forests: the ecology of benthic biodiversity hotspots*. Springer: Cham pp. 1-55. https://doi.org/10.1007/978-3-319-17001-5_43-1
- Xiang, N., Hassenrück, C., Pogoreutz, C., Räder, N., Simancas-Giraldo, S. M., Voolstra, C. R., Wild, C., & Gärdes, A. (2022). Contrasting microbiome dynamics of putative denitrifying bacteria in two octocoral species exposed to dissolved organic carbon (DOC) and warming. *Applied and Environmental Microbiology*, 88, e0188621. <https://doi.org/10.1128/AEM.01886-21>
- Xu, M., Cai, Z., Cheng, K., Chen, G., & Zhou, J. (2024). Mitigation of *Vibrio coralliilyticus*-induced coral bleaching through bacterial dysbiosis prevention by *Ruegeria profundii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 90, e02274-23. <https://doi.org/10.1128/aem.02274-23>
- Zhang, J., Liang, Q. Y., Mu, D. S., Lian, F., Gong, Y., Ye, M., & Du, Z. J. (2024). Cultivating the uncultured: Harnessing the “sandwich agar plate” approach to isolate heme-dependent bacteria from marine sediment. *Mlife*, 3, 143-155. <https://doi.org/10.1002/mlf2.12093>
- Zhang, Z., van Kleunen, M., Becks, L., & Thakur, M. P. (2020). Towards a general understanding of bacterial interactions. *Trends Microbiology*, 28, 783-785. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.05.010>