



Micobiota endófitas de *Thalassia testudinum* König en el Caribe colombiano

Endophyte Mycobiota of *Thalassia testudinum* König in the Colombian Caribbean

Maribeb Castro-González^{1*} y Diana Isabel Gómez-López²

0000-0001-6353-1018

0000-0002-4361-0330

1. Programa de Biología Aplicada, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada, Cajicá, Colombia.

maribeb.castro@unimilitar.edu.co

2. Programa de Biodiversidad y Ecosistemas Marinos, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (Invemar), Santa Marta, Colombia.

diana.gomez@Invemar.org.co

* Autor de correspondencia / Corresponding author

RESUMEN

Se evaluó la presencia de hongos endófitos en hojas de *Thalassia testudinum* a través de la secuenciación de la región ITS. Se encontró una abundancia mayor de Ascomycetos (35,9 %) que de Basidiomicetos (2,9 %) y un alto porcentaje (60 %) de secuencias no clasificadas dada la limitada disponibilidad de datos. La familia más abundante fue *Saccharomycetales fam Incertae sedis* (ascomycetos), aunque 40 % de las secuencias no pudieron ser identificadas a este nivel taxonómico, mientras que la familia más abundante de basidiomicetos fue *Sporidiobolaceae*. Se observó una variedad de géneros en *Ascomycota* y *Basidiomycota*, incluyendo levaduras y hongos filamentosos con diferencias entre áreas de muestreo. Los resultados muestran que la micobiota endófitas de *T. testudinum* incluye géneros no descritos previamente, cuya interacción con el hospedero y su papel en el mantenimiento de la salud de las praderas de pastos marinos en el Caribe colombiano se desconoce.

PALABRAS CLAVE: ITS, hongos, levaduras, pastos marinos, diversidad.

ABSTRACT

The presence of endophytic fungi in *Thalassia testudinum* leaves was evaluated through amplicon sequencing of the ITS region. An abundance of *Ascomycota* (35.9 %) greater than that of *Basidiomycota* (2.9 %) was found, as well as a high abundance of unclassified sequences (60 %) due to the limited availability of data. The most abundant family was *Saccharomycetales fam Incertae sedis* (*Ascomycota*), although 40 % of the sequences could not be classified at this taxonomic level, while *Sporidiobolaceae* was the most abundant family in *Basidiomycota*. A variety of genera within *Ascomycota* and *Basidiomycota* was observed, including yeasts and filamentous fungi with differences between sampling areas. The results show that the endophytic mycobiota of *T. testudinum* includes previously undescribed genera, whose interaction with the host and their role in maintaining the health of these seagrass beds in the Colombian Caribbean are unknown.

KEY WORDS: ITS, fungi, yeast, seagrasses, diversity.

El estudio de los hongos y en especial de los marinos se ha desarrollado recientemente. De acuerdo con estudios de Jones *et al.* (2015), se han logrado identificar 1 112 especies (de 472 géneros), de las cuales, 805 son Ascomicetes, 21 son Basidiomicetos y 26 son Quitridiomicetos y otros filos relacionados. Se les ha otorgado la capacidad de producción de alcaloides, lípidos, enzimas, pigmentos, compuestos con aplicación médica, entre otros, en roles como biotransformación, biodegradación y biorremediación (Masís-Ramos *et al.*, 2021). Dentro de estos se incluyen las levaduras marinas como una alternativa para el control de fitopatógenos y tratamiento de enfermedades (Hernández Montiel *et al.*, 2015), lo que ha llevado a que en la actualidad se registren 138 especies de levaduras de Ascomicetes y 75 de Basidiomicetos (Jones *et al.*, 2015).

Particularmente, la diversidad y distribución de hongos endófitos en plantas ha sido estudiada en pastos marinos en zonas templadas y tropicales, dada la utilidad de dichos microorganismos en diversas aplicaciones como la producción de metabolitos bioactivos y de bioinoculantes para el control de enfermedades en plantas y animales (Mata y Cebrián, 2013; Abdel-Wahab *et al.*, 2021; Ettinger *et al.*, 2021). En el Caribe los estudios se han enfocado en la búsqueda de compuestos bioactivos de hongos endófitos (Rodríguez, 2008), en la comparación de la comunidad fúngica entre pastos marinos (Mata y Cebrián, 2013) y en la producción de metabolitos secundarios entre praderas con y sin síntomas de la enfermedad del desgaste (Castro-Gonzalez *et al.*, 2022). Este último estudio mostró una respuesta metabólica diferencial entre las praderas analizadas en el Caribe colombiano incluso a nivel regional, que derivó en varias preguntas entre ellas: ¿qué hongos están presentes en los tejidos foliares de *T. testudinum* donde se observan síntomas de la enfermedad producida por *Labyrinthula* spp.? y ¿varía dicha micobiota entre praderas? De ahí que el objetivo de esta investigación fue comparar a través de un análisis meta-taxonómico si la diversidad de la micobiota endófito de hojas de *T. testudinum* proveniente de dos praderas de pastos marinos con diferente influencia antropogénica y distantes geográficamente (Isla de Providencia y Parque Nacional Natural Tayrona-PNNT) también variaba.

Las muestras de hojas de pastos marinos fueron obtenidas de vástagos de la colección del museo de historia natural marina de Colombia – Makuriwa que fueron colectadas por el Invemar en dos áreas de una pradera del Parque Nacional Natural Old Providence McBean Lagoon en la Isla de Providencia (81° 22' W - 13° 20' N), identificadas

The study of fungi (especially marine ones) has recently undergone development. According to the studies by Jones *et al.* (2015), 1,112 species have been identified (in 472 genera), out of which 805 are *Ascomycota*, 21 are *Basidiomycota*, and 26 are *Chytridiomycota*, in addition to other related phyla. They can produce alkaloids, lipids, enzymes, pigments, and compounds with medical applications, among others, in roles such as biotransformation, biodegradation, and bioremediation (Masís-Ramos *et al.*, 2021). This includes marine yeasts as an alternative for phytopathogen control and disease treatment (Hernández Montiel *et al.*, 2015), which has led to records of 138 *Ascomycota* and 75 *Basidiomycota* yeasts (Jones *et al.*, 2015).

In particular, the diversity and distribution of endophyte fungi in plants have been studied for seagrasses in temperate and tropical areas, given the usefulness of said microorganisms in diverse applications such as the production of bioactive metabolites and bioinoculants for disease control in plants and animals (Mata and Cebrián, 2013; Abdel-Wahab *et al.*, 2021; Ettinger *et al.*, 2021). In the Caribbean, studies have focused on searching for bioactive compounds in endophyte fungi (Rodríguez, 2008), on comparing the fungal communities of different meadows (Mata and Cebrián, 2013), and on producing secondary metabolites within seagrass meadows with and without symptoms of the wasting disease (Castro-González *et al.*, 2022). This last study showed a differential metabolic response in the analyzed seagrasses of the Colombian Caribbean, even at the regional level, which posed several questions: What fungi are present in the leaf tissue of *T. testudinum* where symptoms of the disease caused by *Labyrinthula* spp. are observed? Does said mycobiota vary between seagrass beds? Hence, the objective of this research was to determine, by means of meta-taxonomic analysis, whether the diversity of the endophyte mycobiota of *T. testudinum* leaves from two geographically distant seagrass meadows with different anthropogenic influence (Providencia Island and the Tayrona National Natural Park, PNNT) also varied.

The seagrass samples were obtained from stems in the collection of the Makuriwa Marine Natural History Museum of Colombia, which had been collected by Invemar in two areas of a meadow of the Old Providence McBean Lagoon National Natural Park in Providence Island (81° 22' W - 13° 20' N), identified as samples M1 and M2, and in Chengue Bay (sample M3) of PNNT

como las muestras M1 y M2, y en la bahía Chengue (muestra M3) del PNNT (74°11' W - 11° 17' N). Los organismos epífitos se eliminaron lavando las hojas de *T. testudinum* con agua destilada antes y después de sumergirlas en HCl 0,5 % por 30 min. Luego las hojas (cinco por cada sitio de muestreo) se pulverizaron en nitrógeno líquido para proceder a la extracción de ADN con el Kit Invisorb siguiendo las instrucciones del fabricante. La cantidad de ADN se midió con el kit Quant-iT™ PicoGreen™ dsDNA. Los extractos de ADN (10 ng/μl) fueron secuenciados usando la plataforma MiSeq de Illumina con base en la amplificación del locus ribosomal ITS con los oligonucleótidos ITS3F - ITS4R (White *et al.*, 1990), generando secuencias de 300 pb. Los análisis de calidad de secuencias, análisis de rarefacción y clasificación de unidades taxonómicas operacionales (UTO) de hongos se desarrollaron utilizando la plataforma Mothur versión 1.39.5 y la base de datos UNITE (Versión 04.02.2020), respectivamente. Las secuencias ITS se depositaron en el GenBank como BioProject ID PRJNA694701.

Los resultados del análisis de rarefacción indicaron que el muestreo fue suficiente para las muestras procesadas en el análisis de diversidad fúngica con un valor de cobertura > 98 %. En total se obtuvieron 8 158 secuencias y 238 UTO de las cuales 66 % se encontraron en pastos de Providencia (M1 y M2) y 44 % en pastos de Chengue (M3). El análisis de riqueza y diversidad mostró variación entre las muestras M1 y M2 tomadas en praderas de Providencia, con mayor proporción (Simpson) o riqueza y uniformidad de UTOs (Índice H') en la muestra M2. Se observó además una mayor riqueza de UTOs raros en la muestra M1 seguida por M2 y M3 de acuerdo con el índice Chao1 como se describe en la Tabla 1.

Tabla 1. Número y diversidad de unidades taxonómicas operacionales (UTO) de hongos endófitos de *T. testudinum*.

Lugar / Place	Muestra / Sample	Número. de secuencias / Number of sequences	Cubrimiento / Coverage	UTO / OTU	Chao1	Shannon (H')	Inverso de Simpson / Simpson Inverse
Providencia / Providence	M1	2,696	0.98	52	284.5	2.0	3.7
Providencia / Providence	M2	2,735	0.99	106	116.5	3.1	8.7
Chengue	M3	2,727	0.99	80	90.1	2.4	5.2

El análisis de clasificación y abundancia relativa de secuencias según la categoría taxonómica mostró que 60 % de las secuencias totales no se pudieron clasificar a nivel de reino. Dichas secuencias representaron el mayor número en cada una de las muestras sugiriendo una alta diversidad y

(74° 11' W - 11° 17' N). Epiphyte organisms were eliminated by washing the leaves of *T. testudinum* with distilled water before and after submerging them in HCl 0.5 % for 30 min. Then, the leaves (five for every sampling site) were pulverized in liquid nitrogen for DNA extraction using the Invisorb kit while following the manufacturer's instructions. The amount of DNA was measured with the Quant-iT PicoGreen dsDNA kit. The DNA extracts (10 ng/μl) were sequenced via Illumina's MiSeq platform, based on the amplification of the ITS ribosomal locus with the ITS3F - ITS4R oligonucleotides (White *et al.*, 1990), generating 300 pb sequences. Sequence quality and rarefaction analyses, as well as the classification of operational taxonomic units (OTU) of the fungi, were carried out using the Mothur platform (version 1.39.5) and the UNITE database (version 04.02.2020), respectively. The ITS sequences were deposited in GenBank with the BioProject ID PRJNA694701.

The results of the rarefaction analysis indicated that the sampling was sufficient for the samples processed in the fungal diversity analysis, with a coverage value > 98 %. A total of 8,158 sequences and 238 OTU were obtained, out of which 66 % were found in meadows of Providence Island (M1 and M2) and 44 % in Chengue meadows (M3). The richness and diversity analysis showed variations between the M1 and M2 samples taken in Providence Island, with a greater proportion (Simpson) or richness and uniformity of OTU (H' Index) in the M2 sample. In addition, a greater richness of rare OTUs was observed in M1, followed by M2 and M3, according to the Chao1, as described in Table 1.

Table 1. Number and diversity of operational taxonomic units (OTUs) of *T. testudinum* endophyte fungi.

According to the taxonomic categories, the sequence classification and relative abundance analysis showed that 60 % of the total sequences could not be classified at the kingdom level. These sequences represented the highest number in each sample, suggesting high diversity and novelty,

novedad que no permite su comparación con las registradas actualmente en las bases de datos públicas. En las muestras analizadas se observó que a nivel de fila el mayor número de secuencias correspondió a ascomicetos con 35,9 % seguido por basidiomicetos con 2,9 % y hongos no clasificados a este nivel con 1,8 %; esto debido principalmente a la presencia de complejos de variantes de secuencias de amplicones en pastos marinos que tampoco se pueden clasificar por falta de información en las bases de datos actuales (Ettinger y Eisen, 2020). Los datos mostraron un mayor número de secuencias de ascomicetos en pastos de Providencia (M1 y M2) respecto a los de Chengue (M3) y un número similar de basidiomicetos en ambos sitios de muestreo, exceptuando la muestra M1 donde no se detectó este grupo (Tabla 2).

Tabla 2. Número de secuencias fúngicas detectadas a nivel de fila en *T. testudinum*

	Número de secuencias por muestra / Number of sequences per sample		
	M1	M2	M3
Hongos no clasificados a nivel de reino / Fungi not classified at the kingdom level	6,160	1,795	1,497
Ascomicetos / Ascomycota	3,584	1,146	991
Basidiomicetos / Basidiomycota	0	263	209
Hongos no clasificados a nivel de fila / Fungi not classified at the phylum level	120	136	30

Se encontraron nueve familias de ascomicetos dentro de las cuales las más abundantes fueron *Saccharomycetales* fam *Incertae sedis* (1 245) representada por el género *Candida* y la especie *C. parapsilosis*, seguida por *Saccharomycetaceae* (794 secuencias) representada por los géneros *Kazachstania*, la familia *Phaeosphaeriaceae* (225 secuencias) y la *Aspergillaceae* (194 secuencias); se detectó un alto número de secuencias que no pudieron ser clasificadas en este fila (1 859). Para los Basidiomicetos se encontraron seis familias dentro de las cuales la más abundante fue *Sporidiobolaceae* (235 secuencias) representada en 77 % por el género *Rhodotorula*, encontrado en ambos sitios de muestreo (Figura 1). También se encontró variedad de géneros de hongos endófitos de ascomicetos y basidiomicetos con una mayor riqueza de estos últimos en Providencia (17 géneros) y en su mayoría diferentes a los encontrados en Chengue (Tabla 3).

which does not allow them to be compared against sequences currently stored in public databases. In the analyzed samples, it was observed that, at the phylum level, the highest number of sequences corresponded to *Ascomycota* (35.9 %), followed by *Basidiomycota* (2.9 %) and fungi not classified at this level (1.8 %). This is mainly due to the presence of amplicon sequence variant complexes in seagrasses, which also cannot be identified given the lack of information in current databases (Ettinger and Eisen, 2020). The data showed a larger number of *Ascomycota* sequences in Providence seagrasses (M1 and M2) with respect to those in Chengue (M3), as well as a similar number of *Basidiomycota* at both sampling sites, with the exception of M1, where this group was not identified (Table 2).

Table 2. Number of fungal sequences detected at the phylum level in *T. testudinum*

Nine *Ascomycota* families were found, among which the most abundant was *Saccharomycetales* fam *Incertae sedis* (1,245 sequences), represented by the genus *Candida* and the species *C. parapsilosis*, followed by *Saccharomycetaceae* (794), represented by the genera *Kazachstania*, and the families *Phaeosphaeriaceae* (225) and *Aspergillaceae* (194). We detected a high number of sequences that could not be classified in this phylum (1,859). For the *Basidiomycota*, six families were found, with the most abundant being *Sporidiobolaceae* (235), 77 % of which is made up of the genus *Rhodotorula*, found at both sampling sites (Figure 1). A variety of genera was also found for *Ascomycota* and *Basidiomycota* endophyte fungi, with a greater richness of the latter in Providence Island (17 genera), which were mostly different from those found in Chengue (Table 3).

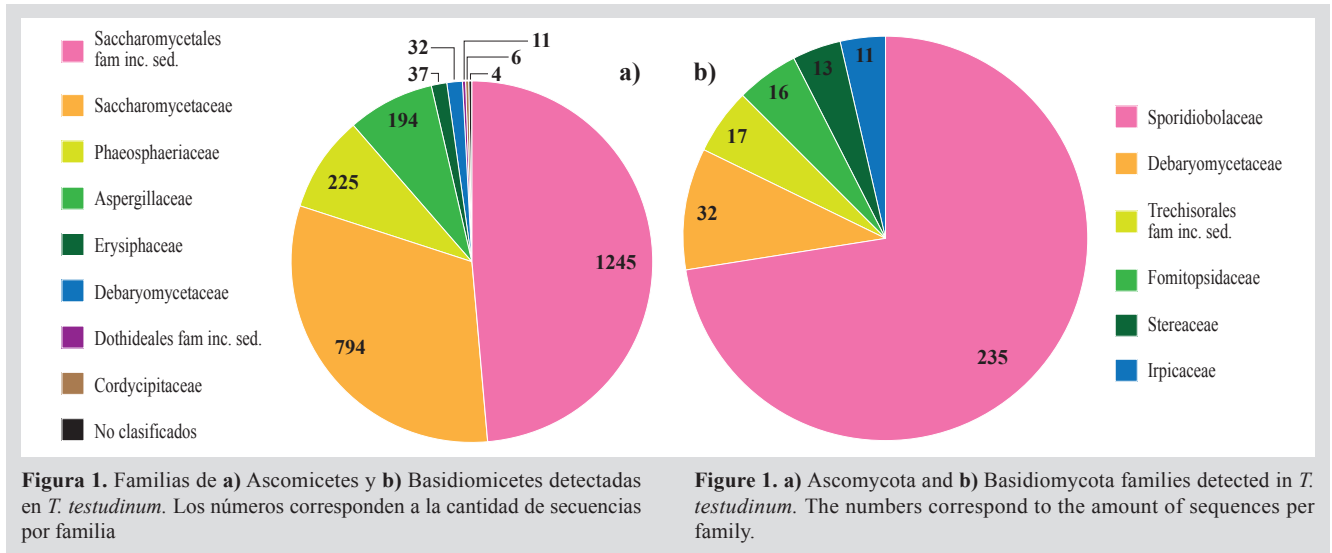


Tabla 3. Géneros de hongos encontrados en pastos marinos de Providencia (M1 y M2) y Chengue (M3). Entre paréntesis se indica el número de secuencias de los géneros más abundantes y en negrilla los que se comparten entre áreas de muestreo.

	Géneros en Providencia (M1 y M2) / Genera in Providence Island (M1 and M2)	Géneros en Chengue (M3) / Genera in Chengue (M3)
Ascomicetos / Ascomycota	<i>Candida parapsilopsis</i> (1,104), <i>Kazachstania humilis</i> (794), <i>Beauveria</i> , <i>Penicillium</i> (172), <i>Hortaea</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Preussia</i> , <i>Meyerozyma</i>	<i>Hanseniaspora uvarum</i> (60), <i>Cercospora</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Pichia terricola</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Meyerozyma</i> , <i>Candida orthopsilosis</i>
Basidiomicetos / Basidiomycota	<i>Rhodotorula</i> (78), <i>Lyophyllum</i> , <i>Coprinellus</i> , <i>Ceratobasidium</i> , <i>Amyloporia</i> , <i>Postia</i> , <i>Trametes</i> , <i>Sistotremastrum</i> , <i>Rynchogastrea</i>	<i>Rhodotorula</i> (102), <i>Mycena</i> , <i>Hyphoderma</i> , <i>Steccherinum</i> , <i>Papiliotrema</i>

Con esta metodología se detectaron varios géneros de hongos que complementan la amplia información de hongos endófitos que han sido aislados de pastos marinos de la familia *Hydrocharitaceae* a través de técnicas de aislamiento tradicional (Newell y Fell, 1980; Mata Cebrián *et al.*, 2013,) incluida *T. testudinum* y que en su mayoría corresponden a ascomicetos, como ha sido registrado previamente (Supaphon *et al.*, 2017). Algunos de ellos son comunes en rizomas y hojas de pastos marinos como *Penicillium* y *Aspergillus* (Rodríguez, 2008; Supaphon *et al.*, 2013; Venkatachalam *et al.*, 2015; Ettinger y Eisen, 2020) que también han sido aislados de aguas del Caribe colombiano (Santos-Acevedo, 2018). Otros, aunque son patógenos de plantas, han sido registrados en ambientes marinos como *Steccherinum*, *Bipolaris*, *Beauveria*, *Cercospora*, *Alternaria* (Manamgoda *et al.*, 2014; Jones *et al.*, 2015), o son parásitos de hongos (*Papiliotrema*), o se han registrado en palmas estuarinas como *Hyphoderma* (Loilong *et al.*, 2012). Sin embargo, se detectaron varios Basidiomicetos típicos de ambientes terrestres y saprófitos

Table 3. Fungi genera found in seagrasses of Providence Island (M1 and M2) and Chengue (M3). Parentheses indicate the number of sequences for the most abundant genera, and those in bold are shared between sampling areas.

With this methodology, several fungi genera were identified which complement the large amount of information on endophyte fungi that have been isolated from seagrasses in the family *Hydrocharitaceae* by means of traditional isolation techniques (Newell and Fell, 1980; Mata Cebrián *et al.*, 2013), including *T. testudinum*, which mostly correspond to *Ascomycota* as previously recorded (Supaphon *et al.*, 2017). Some of them are common in the rhizomes and leaves of seagrasses such as *Penicillium* and *Aspergillus* (Rodríguez, 2008; Supaphon *et al.*, 2013; Venkatachalam *et al.*, 2015; Ettinger and Eisen, 2020), which have also been isolated in waters of the Colombian Caribbean (Santos-Acevedo 2018). Others, although they are plant pathogens, have been recorded in marine environments, such as *Steccherinum*, *Bipolaris*, *Beauveria*, *Cercospora*, and *Alternaria* (Manamgoda *et al.*, 2014; Jones *et al.*, 2015), are parasites of fungi (*Papiliotrema*), or have been recorded in estuarine palms such as *Hyphoderma* (Loilong *et al.*, 2012). However, several Basidiomycetes typical of land and saprophytic environments were detected

que no se registran en ambientes marinos como: *Lyophyllum*, *Coprinellus*, *Ceratobasidium*, *Amyloporia*, *Postia*, *Trametes*, *Sistotremastrum*, *Rynchogastrema*, *Steccherinum* y *Mycena*.

En cuanto a las levaduras, varios de los géneros aquí encontrados (*Preussia*, *Kazachstania* y *Meyerozyma* (Cheng *et al.*, 2009; Jones *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2020), *Hanseniaspora* (Cheng *et al.*, 2009; Abdel-Wahab *et al.*, 2021), *Hortaea* (Ettinger *et al.*, 2021; Abdel-Wahab *et al.*, 2021) y varias especies de *Candida* incluida *C. parapsilopsis* (Wang *et al.*, 2008; Arora *et al.*, 2021), además de *Pichia* y *Rhodotorula* (Hagler *et al.*, 1981; Hirimuthugoda, 2006; Ettinger y Eisen, 2020) ya se han registrado como ubicuos en ambientes marinos y costeros en agua, sedimentos y animales (Kutty y Philip 2008) así como en manglares y/o pastos marinos.

Las diferencias en géneros de hongos entre praderas sugieren variación en las condiciones ambientales locales o del genotipo de la planta hospedera que determinan la composición de endófitos (Wainwright *et al.*, 2019). Al respecto, el estudio de Castro-González *et al.* (2022) registró diferencias en la concentración de nutrientes (amonio y fósforo) en la columna de agua y de carbono orgánico total y materia orgánica en los sedimentos entre ambas praderas, que podrían estar incidiendo sobre la comunidad fúngica; sin embargo, es necesario ampliar los estudios para poder corroborar esta aseveración. Estos resultados sugieren que la diversidad de hongos endófitos que poseen estos pastos marinos, podrían ser claves en su papel protector contra patógenos de *T. testudinum* como el protista *Labyrinthula* spp., cuya presencia se evidenció con síntomas de la enfermedad del desgaste en las praderas muestreadas con una incidencia < 15 % (Castro-González *et al.*, 2022), aunque a nivel mundial este protista ha causado mortandades “naturales” de pastos marinos en diferentes áreas costeras (Garcias-Bonet *et al.*, 2011; Burge *et al.*, 2014).

Sin embargo, en el futuro cercano se requiere ampliar el estudio al microbioma asociado a las praderas y evaluar si éste varía entre praderas sanas o afectadas por enfermedades y su posible papel en el sistema de defensa de la planta frente a patógenos y/o cambios físico-químicos que se dan en aguas del Caribe colombiano a diferentes escalas espacio-temporales, dado que estudios recientes registran que la composición del microbioma de la filosfera varía tanto con la incidencia de la enfermedad como con la distancia geográfica y en menor grado con la temperatura (Beatty *et al.* 2022). Por otra parte, teniendo en cuenta la información previa sobre estos organismos, el potencial que

which are not reported in marine environments, as is the case of *Lyophyllum*, *Coprinellus*, *Ceratobasidium*, *Amyloporia*, *Postia*, *Trametes*, *Sistotremastrum*, *Rynchogastrema*, *Steccherinum*, and *Mycena*.

As for yeasts, several of the genera found herein, *i.e.*, *Preussia*, *Kazachstania*, and *Meyerozyma* (Cheng *et al.*, 2009; Jones *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2020), *Hanseniaspora* (Cheng *et al.*, 2009; Abdel-Wahab *et al.*, 2021), *Hortaea* (Ettinger *et al.*, 2021; Abdel-Wahab *et al.*, 2021), and several *Candida* species including *C. parapsilopsis* (Wang *et al.*, 2008; Arora *et al.*, 2021), in addition to *Pichia* and *Rhodotorula* (Hagler *et al.*, 1981; Hirimuthugoda, 2006; Ettinger and Eisen, 2020), have already been recorded as ubiquitous in marine and coastal environments in water, sediments, and animals (Kutty and Philip, 2008), as well as in mangroves and/or seagrasses.

The differences between meadows regarding fungi genera suggest variations in local environmental conditions or in the host plant's genotype, which determine the endophyte composition (Wainwright *et al.*, 2019). In this regard, the study by Castro-González *et al.* (2022) recorded differences in the nutrient concentration (ammonium and phosphorous) of the water column and in the total organic carbon and organic matter in the sediments of both meadows, which may influence the fungal community. However, it is necessary to broaden studies in order to corroborate this assertion. These results suggest that the diversity of endophyte fungi in these seagrasses might be key in their protecting role against *T. testudinum* pathogens such as the protist *Labyrinthula* spp., whose presence was evidenced in symptoms of the wasting disease for the sampled meadows, with an incidence < 15 % (Castro-González *et al.*, 2022), even though this protist has caused ‘natural’ mortality in seagrasses of different coastal areas around the world (Garcias-Bonet *et al.*, 2011; Burge *et al.*, 2014).

However, in the near future, it is necessary to extend research to the microbiome associated with seagrass meadows and evaluate whether it varies between healthy meadows and those affected by disease, as well as its possible role in plants' defense system against pathogens and/or physicochemical changes in waters of the Colombian Caribbean on different spatial-temporal scales, as recent studies indicate that the composition of the phyllosphere's microbiome varies with both the incidence of disease and geographical distance, as well as with temperature to a lesser extent (Beatty *et al.*, 2022). On the other hand, considering the previous information on these organisms, their potential is fundamental, especially for countries with high marine biodiversity, as is the case



tienen es fundamental especialmente para aquellos países que poseen alta biodiversidad marina como Colombia, para ser desarrollados en el sector biotecnológico de productos y procesos de utilidad, por lo que ahondar en el conocimiento de su bioprospección se convierte en el fundamento de la investigación en ciencia y tecnología a corto plazo.

AGRADECIMIENTOS

Producto derivado del Proyecto CIAS 2947 vigencia 2019, financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad Militar Nueva Granada y el Invemar bajo el Convenio Especial de Cooperación INV- CIAS-2947 de 2019. Esta es la contribución # 1 362 del Invemar.

of Colombia, regarding their development in the field of biotechnology for useful products and processes. This is why delving into the understanding of their bioprospection constitutes the foundation of scientific and technological research in the short term.

ACKNOWLEDGMENTS

Product derived from Project CIAS 2947, year 2019, funded by the research vice rector of Universidad Militar Nueva Granada and Invemar, under the Special Cooperation Agreement INV- CIAS-2947 of 2019. This is contribution # 1,362 of Invemar.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Abdel-Wahab, M., A.H. Bahkali, A.M. El-Gorban and G. Jones. 2021. Metagenomics study of fungi and fungi-like organisms associated with the seagrass *Halophila stipulacea* (Forssk.) Asch. from Al-Leith Mangroves, Saudi Arabia. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-539541/v1>
- Arora, P., P. Singh, Y. Wang, A. Yadav, K. Pawar, A. Singh, G. Padmavati, J. Xu and A. Chowdhary. 2021. Environmental isolation of *Candida auris* from the coastal wetlands of Andaman Islands, India. *Bio* 12:e03181-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.03181-20>
- Beatty, D.S., L.R. Aoki, B. Rappazzo, Ch. Bergman, L.K. Domke, J. E. Duffy, K. Dubois, G.L. Eckert, C. Gomes, O. J. Graham, L. Harper, C.D. Harvell, T. L. Hawthorne, M. Hessing-Lewis, K. Hovel, Z.L. Monteith, R.S. Mueller, A.M. Olson, C. Prentice, F. Tomas, B. Yang and J.J. Stachowicz. 2022. Predictable changes in eelgrass microbiomes with increasing wasting disease prevalence across 23° latitude in the northeastern Pacific. *MSystems*, 7(4): e00224-22.
- Burge, C., C. Mark, C. Friedman, B. Froehlich, P. Hershberger, E. Hofmann, *et al.* 2014. Climate change influences on marine infectious diseases: implications for management and society. *Annu. Rev. Mar. Sci.*, 6: 249–277.
- Castro-González, M, D.I. Gómez-López, L. Sánchez-Valencia, A. Acosta-Chaparro and E. Coy-Barrera. 2022. Enfermedad del desgaste en praderas de *Thalassia testudinum* (Hydrocharitaceae) y su relación con el perfil metabólico. *Rev. Biol. Trop.*, 70: 149-172. <https://doi.org/10.15517/rev.biol.trop.v70i1.46183>
- Chen, Y. S, Y. Fujitoshi and L.Y. Chen. 2009. Isolation of marine yeasts from coastal waters of northeastern Taiwan. *Aquat. Biol.*, 8: 55–60. <https://doi.org/10.3354/ab00207>
- Ettinger, C.L. and J.A. Eisen. 2020. Fungi, bacteria and oomycota opportunistically isolated from the seagrass *Zostera marina*. *PLoS One*, 15: e0236135. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236135>
- Ettinger, C.L., L.E. Vann and J.A. Eisen. 2021. Global diversity and biogeography of the *Zostera marina* mycobiome. *Appl. Environ. Microbiol.*, 87 :e02795-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.02795-20>
- Garcías-Bonet, N., T.D. Sherman, C.M. Duarte and N. Marbá. 2011. Distribution and pathogenicity of the protist *Labyrinthula spp.* in western Mediterranean seagrass meadows. *Estuar. Coast.*, 34: 1161-1168.
- Hagler, A.N. and L.C. Mendonça-Hagler. 1981. Yeasts from marine and estuarine waters with different levels of pollution in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41: 173-178.
- Hernández Montiel, L.G., R. Zulueta Rodríguez, E. D. Gutiérrez Pérez, L. Lara Capistrán y R. Galicia Guevara. 2015. Levaduras marinas: alternativa de conservación. *Cienc. Homb.*, 28(2): 69-75.
- Hirimuthugoda, N.Y., X. Li, L. Wang and L. Wu. 2006. Diversity of phytase-producing marine yeasts. *Cienc. Mar.*, 32: 673–682.
- Jones, E. B. G., S. Suetrong, J. Sakayaroj, A. H. Bahkali, M. A. Abdel-Wahab, T. Boekhout and K-L. Pang. 2015. Classification of marine Ascomycota, Basidiomycota, Blastocladiomycota and Chytridiomycota. *Fungal Divers.*, 73(1):1–72. <https://doi.org/10.1007/s13225-015-0339-4>
- Jones, E.B.G., P. Ka-Lai, A. Mohamed, A. Wahab, B. Scholz, K.D. Hyde, T. Boekhout, R.E. Mostafa, E. Rateb, L. Henderson, J. Sakayaroj, S. Suetrong, M. C. Dayarathne, V. Kumar, S. Raghukumar, K. R. Sridhar, A.H.A. Bahkali, F.H. Gleason and Ch. Norphanphoun. 2019. An online resource for marine fungi. *Fungal Divers.* <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00426-5>
- Kutty, S.N. and R. Philip. 2008. Marine yeasts — a review. *Yeast*, 25:465–483. <https://doi.org/10.1002/yea.1599>
- Lima, R.N. and A.L.M. Porto. 2016. Recent advances in marine enzymes for biotechnological processes. *Adv. Food Nutr. Res.*, 78: 153–192. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.06.005>

- Loilong, A., J. Sakayaroj., N. Rungjindamai, R. Choeyklin and E.G. Jones EG. 2012. Biodiversity of fungi on the palm *Nypa fruticans*. pp. 273-290. En: E. B. Gareth Jones and K.-L. Pang (Eds.). Marine Fungi. De Gruyter, Berlin. <https://doi.org/10.1515/9783110264067.273>
- Manamgoda, D.S., A.Y. Rossman, L.A. Castlebury, P.W. Crous, H. Madrid, E. Chukeatirote and K.D. Hyde. 2014. The genus *Bipolaris*. Stud. Mycol., 79: 221-288. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.10.002>
- Masís-Ramos, S., P. Meléndez-Navarro y E. Mendez-Rodríguez. 2021. Potencial biotecnológico de los hongos marinos en las zonas costeras de Costa Rica. Tecnol. Marcha, 34(2): 48-59. <https://doi.org/10.18845/tm.v34i2.4430>
- Mata, J.L. and J. Cebrián. 2013. Fungal endophytes of the seagrasses *Halodule wrightii* and *Thalassia testudinum* in the north-central Gulf of Mexico. Bot. Mar., 56:541-545
- Newell, S.Y. and J.W. Fell. 1980. Mycoflora of turtlegrass (*Thalassia testudinum* Konig) as recorded after seawater incubation. Bot. Mar., 23:265-275.
- Rivas-García, T., B. Murillo-Amador, A. Nieto-Garibay, R. Chiquito-Contreras, G. Rincón-Enríquez and L. Hernández-Montiel. 2018. Effect of ulvan on the biocontrol activity of *Debaryomyces hansenii* and *Stenotrophomonas rhizophila* against fruit rot of *Cucumis melo* L. Agronomy., 8(12): 273.
- Rodríguez, G. M. 2008. Potential of fungal endophytes from *Thalassia Testudinum* Bank Ex K.D. Koenig as producers of bioactive compounds, University of Puerto Rico, Mayaguez (Puerto Rico), p. 91
- Santos-Acevedo, M., M. Quintero, A. Velásquez-Emiliani, E. Jiménez-Vergara, L.M. Blandón, L.M. Jitínico-Shubach, M. Montoya-Giraldo, K.L. Alvarado-Campo, M. Vides, D. Alonso, y J. Gómez-León. 2018. Microvida del Caribe colombiano profundo. Ser. Doc. Gen. Invemar, 98, 196 p.
- Supaphon, P., S. Phongpaichit, V. Rukachaisirikul and J. Sakayaroj. 2013. Antimicrobial potential of endophytic fungi derived from three seagrass species: *Cymodocea serrulata*, *Halophila ovalis* and *Thalassia hemprichii*. PLoS ONE., 8: e72520. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072520>
- Supaphon, P., S. Phongpaichit, J. Sakayaroj, V. Rukachaisirikul, et al. 2017. Phylogenetic community structure of fungal endobiontes in seagrass species. Bot. Mar., 60:489-502.
- Vázquez-Vázquez, M.L., R. G. Chiquito-Contreras, G. Sánchez-Viveros, J. J. Reyes-Pérez, M.J. Martínez-Hernández y L.G. Hernández-Montiel. 2021. Efecto de levaduras de origen marino y ulvan en el control pos cosecha de *Penicillium italicum* agente causal del moho azul en limón persa. Biotecnia, 23(3): 78-88. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i3.1428>
- Venkatachalam, A., N. Thirunavukkarasu and T. S. Suryanarayanan. 2015. Distribution and diversity of endophytes in seagrasses. Fungal Ecol., 13:60-65. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.07.003>
- Wainwright, B.J., A.G. Bauman, G.L. Zahn, P.A. Todd and D. Huang. 2019. Characterization of fungal biodiversity and communities associated with the reef macroalga *Sargassum ilicifolium* reveals fungal community differentiation according to geographic locality and algal structure. Mar. Biodivers., 49: 2601-2608. [10.1007/s12526-019-00992-6](https://doi.org/10.1007/s12526-019-00992-6).
- Wang, L., Z. Chi, L. Yue, et al. 2008. Occurrence and diversity of *Candida* genus in marine environments. J. Ocean Univ. China., 7:416-420. <https://doi.org/10.1007/s11802-008-0416-3>
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, 315-322. In PCR protocols a guide to methods and applications. Academic, San Diego.
- Yengkhom, D.S., C.S. Mayanglambam and K.P. Manasa. 2020. Biotechnological aspects of mangrove microorganisms: 381-398. In: Patra, J.K., R.R. Mishra and H. Thatoi (Eds.). Biotechnological utilization of mangrove resources. Academic. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819532-1.00018-4>

RECIBIDO / RECEIVED: 26/07/2023

ACEPTADO / ACCEPTED: 18/09/2023