



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES  
UNIDAD JURIQUILLA  
LICENCIATURA EN CIENCIAS GENÓMICAS**

**BACTERIAS ECTOSIMBIOTES DEPENDIENTES DEL PLUMAJE DEL PINGÜINO DE  
MAGALLANES DESCUBIERTAS POR GENOMAS ENSAMBLADOS A PARTIR DE METAGENOMAS**

**TESIS  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
LICENCIADA EN CIENCIAS GENÓMICAS**

**PRESENTA:  
BRENDA PAULINA VÁZQUEZ RAMÍREZ**

**DRA. VALERIA FRANCISCA EUGENIA LEOPOLDINA DE MARIA DE GUADALUPE SOUZA  
SALDÍVAR  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM**

**DRA. ANA ELENA ESCALANTE HERNÁNDEZ  
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM**

**DRA. ERIA ALAIDE REBOLLAR CAUDILLO  
CENTRO DE CIENCIAS GENÓMICAS, UNAM**

**DRA. PATRICIA VÉLEZ AGUILAR  
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM**

**DR. SUR HERRERA PAREDES  
LABORATORIO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN SOBRE EL GENOMA HUMANO, UNAM**

**LUGAR, MES Y AÑO EN QUE SE REALIZÓ EL EXÁMEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## RESUMEN

Los microorganismos asociados al plumaje del pingüino de Magallanes se creen ser adquiridos a través del ambiente con el que tienen contacto, lo que implicaría que estos no son particulares a las plumas del pingüino. Una interpretación alternativa es que el microbioma es particular a las plumas y por lo tanto, característico de la especie del pingüino. Para discernir entre estas posibilidades, se obtuvieron genomas ensamblados a partir de metagenómica shotgun y posteriormente se realizó una clasificación taxonómica y una anotación funcional. Se logró analizar la presencia/ausencia de 178 rutas metabólicas, entre ellas rutas que indican relación entre huésped y hospedero. Estos resultados sugieren un microbioma ectosimbionte particular a las plumas con múltiples capacidades metabólicas compuesto principalmente por especies de la familia *Moraxellaceae*.

## **AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS**

Agradecimientos a:

Universidad Nacional Autónoma de México

Dra. Valeria Souza Saldívar, Instituto de Ecología, UNAM, responsable del Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental y a todos sus miembros.

M.C. Rodrigo García Herrera, Instituto de Ecología, UNAM, responsable del Laboratorio Nacional de Ciencias de la Sostenibilidad, LANCIS UNAM.

El financiamiento del proyecto fue con el proyecto ANID-Chile R20F0009 “Microbiome of the external surface of keystone species of ecological and economical importance in the Magallanes region and the Chilean Antarctic: microbes as bioindicators of the aquatic ecosystem health in a global warming scenario.” Así como la beca de ayudante de investigador SNI III, CONAHCYT, con registro I1200/051/2023.

Dedicatorias a:

Dedico este trabajo a mis padres, Raúl y Gabriela, por brindarme su apoyo incondicional y la oportunidad de realizar mis estudios.

A todos los que estuvieron a mi lado durante la escritura de esta tesis y me brindaron su apoyo moral para realizarla, como familia y amigos. Incluso a mi psiquiatra por brindarme la oportunidad de calmar mi mente.

A mi artista favorita desde los 12 años, Taylor Swift por motivarme a seguir mis sueños y por los momentos que escuché su música mientras redactaba este trabajo.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>i</b>
<b>AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS</b> .....	<b>ii</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1- Metagenómica como herramienta para la descripción de la diversidad microbiológica.....	1
1.1 - Tipos de metagenómica.....	2
1.2 Genomas ensamblados a partir de metagenomas (MAGs).....	3
2- La taxonomía microbiana en la era genómica.....	6
3- El papel de las aves silvestres y su microbioma.....	7
3.1- Concepto de microbioma en animales.....	7
3.2- Importancia biológica de las aves.....	8
3.3- Relevancia de estudios de microbiomas en aves.....	8
4- El Estrecho de Magallanes.....	10
<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>12</b>
1- El pingüino de Magallanes.....	12
2- El plumaje del pingüino de Magallanes.....	14
3- Conocimiento actual sobre los microorganismos asociados a pingüinos.....	15
3.1- Microbioma de múltiples especies de pingüino.....	15
3.2- Microbioma del pingüino de Magallanes.....	17
3.3- Factores que podrían influir en la composición microbiana de las plumas en el pingüino de Magallanes.....	17
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>19</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>22</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>23</b>
1- Población y muestra.....	23
2- Análisis bioinformático.....	25
2.1- Pre-procesamiento de muestras.....	25

2.2- Obtención de contigs.....	26
2.3- Binning.....	26
2.4- Obtención de genomas a partir de metagenomas (MAGs).....	27
2.5- Clasificación taxonómica.....	27
2.6- Anotación funcional.....	27
2.7- Visualización de resultados.....	28
3- Consideraciones éticas.....	28
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>29</b>
1- Pre-procesamiento de las muestras.....	29
2- Obtención de contigs.....	29
3- Binning y obtención de MAGs.....	30
4- Clasificación taxonómica.....	31
5- Anotación funcional.....	35
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>39</b>
1- Sesgos y limitaciones de las técnicas metagenómicas utilizadas en éste estudio.....	39
2- Presencia de los clados taxonómicos hallados en otros estudios y nuevas especies encontradas.....	41
3- Abundancia de la familia Moraxellaceae.....	42
4- Las capacidades metabólicas de los MAGs ensamblados.....	43
5- Bacterias actuando como simbioses de las plumas.....	47
6- Implicaciones y aplicaciones.....	48
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>53</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>54</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>77</b>
<b>LISTA DE TABLAS.....</b>	<b>81</b>
<b>APÉNDICES.....</b>	<b>84</b>
1- Pre-procesamiento de muestras.....	84
2- Mapeo a genoma humano y genoma de pingüino de Magallanes.....	84
3- Obtención de contigs.....	86

4- Comparación de ensamblados.....	86
5- Binning.....	86
6- Refinamiento de bins.....	88
7- Obtención de MAGs.....	88
8- Clasificación taxonómica.....	88
9- Anotación funcional.....	88
10- Obtención de genes ortólogos y árbol filogenético.....	89
11- Identidad promedio de nucleótidos.....	89
12- Matriz pangenómica.....	89
13- Obtención de rutas metabólicas presentes.....	90
14- Tabla de rutas metabólicas.....	90
<b>GLOSARIO.....</b>	<b>97</b>

## INTRODUCCIÓN

### 1- Metagenómica como herramienta para la descripción de la diversidad microbológica

Con el advenimiento de la secuenciación de nueva generación del ADN (NGS), la cual es una tecnología capaz de secuenciar grandes cantidades de ácidos nucleicos (Beedanagari & John, 2014); se ha hecho cada vez más factible recuperar y conocer la secuencia del material genómico de un organismo en poco tiempo, incluso si éste tiene una alta complejidad biológica como en el caso del genoma humano (Beedanagari y John, 2014). Hoy en día no solo podemos realizar la secuenciación de un genoma, sino que podemos secuenciar muestras ambientales completas y obtener metagenomas (Cavicchioli, 2007).

Un metagenoma es la colección de genomas de muestras ambientales (Handelsman et al., 1998; Wajid et al., 2021). Por lo tanto, la metagenómica es el estudio de múltiples genomas provenientes de diversos ambientes como suelo, aire, ecosistemas acuáticos o asociados a hospederos, que han sido utilizados para describir la composición taxonómica y funcional de los microorganismos presentes en éstos. Estos datos han confirmado que la gran mayoría de los microorganismos aún no se han cultivado ni caracterizado (Coenye et al., 2005). Los microbios son considerados un excelente sistema para el estudio de la biodiversidad, pues pueden reflejar patrones evolutivos o provocar alteraciones en el ambiente (Cao et al., 2020; Ochoa-Sánchez et al., 2023b), al ser responsables de los ciclos biogeoquímicos de gran parte de los elementos con sus metabolismos, por lo que tienen amplio potencial de aplicaciones biotecnológicas y de interés comercial (Bolhuis & Cretoiu, 2016).

En lo que respecta a los ambientes oceánicos del sur, los microorganismos son reconocidos por tener papeles cruciales en los ciclos biogeoquímicos globales, mientras que los microorganismos en otro tipo de ambiente Antártico no se encuentran del todo comprendidos (Cavicchioli, 2015). Aunque los genes de desnitrificación son abundantes en suelos antárticos impactados por aves marinas (Ramírez-Fernández et al., 2021).



## 1.1 - Tipos de metagenómica

Existen dos tipos de metagenómica, conocidos como metagenómica de amplicones o metabarcoding (datos de un gen específico) o metagenómica shotgun (datos genéticos no dirigidos) (Nam et al., 2023). La primera consiste en la amplificación de fragmentos de secuencias conservadas en los genomas microbianos, generalmente genes que codifican para la subunidad pequeña del ribosoma (Nam et al., 2023); mientras que la segunda consiste en la fragmentación y el análisis de todo el material genómico presente (Nam et al., 2023).

Pueden encontrarse ciertos sesgos en la utilización de metagenómica por amplicón, ya que al estar centrado en genes que conocemos, no nos permite identificar toda la diversidad taxonómica y procesos metabólicos que están presentes. Esta limitación de la metagenómica de amplicón se pueden resolver mediante la metagenómica shotgun (Nam et al., 2023); en la que se secuencian todos los fragmentos de ADN y está centrada principalmente en la extracción de genes y metabolismos funcionales, lo que permite el ensamble de genomas *de novo*, realizar filogenias y análisis funcionales. Además, la mayor parte de los protocolos no cuentan con un sesgo de amplificación de alguno de los dominios del árbol de la vida, por lo que es capaz de detectar bacterias, arqueas, virus y eucariontes por igual (Breitwieser et al., 2019).

La elección entre metagenómica shotgun y de amplicón depende de la pregunta de investigación, pero cabe señalar que cuando la secuenciación ya no está dirigida a uno o unos pocos genes, se puede abordar una gama más amplia de preguntas (Cassin-Sackett et al., 2019). A pesar de esto, la mayoría de estudios metagenómicos utilizan la secuenciación de amplicón con el gen 16S de la subunidad ribosomal (Ochoa-Sánchez et al., 2023b; Rohrer et al., 2023), lo que causa que siga existiendo un sesgo en la literatura contemporánea. Por lo tanto, la metodología empleada en esta tesis consiste en el uso de la metagenómica shotgun.

## 1.2 Genomas ensamblados a partir de metagenomas (MAGs)

De acuerdo con Quince et al. (2017) un estudio típico de metagenómica shotgun consiste en: 1) pre-procesamiento bioinformático de muestras, 2) ensamble de secuencias 3) agrupamiento de contigs como especies 4) obtención de genomas a partir de metagenomas (MAGs), 5) determinar la clasificación taxonómica de los MAGs, 6) determinar las rutas metabólicas que están presentes y por último 7) la visualización de los resultados.

La metagenómica resuelta por genomas ensamblados ha sido fundamental para descripciones más completas de la diversidad microbiana, dado que los genomas ensamblados a partir de metagenomas (MAGs) a menudo se derivan de organismos no cultivados que pueden tener relaciones lejanas de cualquier especie aislada; lo que contribuye a completar poco a poco el árbol de la vida (Kim & Steinegger, 2023), aunque de igual forma pueden tener desventajas que se mencionan más adelante. El ensamble de contigs a partir de los metagenomas, aunque sean incompletos, ofrece ventajas sobre el análisis de las lecturas por sí solas; ya que permiten obtener un mejor perfil taxonómico (Cassin-Sackett et al., 2019), identificar marcos de lectura abiertos, así como proporcionar contextos genómicos más amplios (operones, sintenia), lo que mejora las predicciones de capacidades metabólicas, incluso permite el descubrimiento de nuevos metabolismos (Kim & Steinegger, 2023).

Los primeros MAGs fueron publicados en 2004 (Tyson et al., 2004) y desde entonces, su presencia en la literatura ha sido creciente hasta llegar a cientos de miles en las bases de datos públicas (Kim & Steinegger, 2023). Existe un interés cada vez mayor en el uso de estas secuencias genómicas, para evaluar las relaciones evolutivas entre taxones microbianos (Coenye et al., 2005). Además, pueden facilitar estudios de las comunidades de donde se obtienen y sus actividades al generar secuencias de referencia para enfoques moleculares dirigidos (Ramírez-Fernández et al., 2021).

La obtención de MAGs nos ayuda a recuperar parte de las especies microbianas desconocidas por las bases de datos, aunque hay que reconocer que una

desventaja es que gran parte de las lecturas pueden permanecer sin usarse después del ensamblaje y esto depende en gran medida de la estructura y complejidad de la comunidad (Quince et al., 2017). Además, no existen muestras controles o pautas acerca de la cobertura “correcta” para un ambiente específico (Quince et al., 2017) dependiendo de si hay datos previos del ambiente. Se han realizado comparaciones de métodos y kits para la extracción de ADN, mencionando que su efectividad se debe considerar para obtener buenos resultados en estudios metagenómicos (Rehner et al., 2022; Shaffer et al., 2022; Sui et al., 2020; Yang et al., 2020) y es que los reactivos del kit o del laboratorio pueden contener contaminantes microbianos, en donde particularmente las muestras con bajo contenido de biomasa, como son los hisopos de piel usados en este estudio, son vulnerables a este problema (Quince et al., 2017).

Ensamblar metagenomas puede ser un gran desafío debido a la abundancia variable de los genomas, ocasionado por la profundidad de secuenciación altamente desigual de diferentes organismos en una muestra de metagenómica (Breitwieser et al., 2019; Singh et al., 2013). El ensamblador usado debe ser capaz de lograr un equilibrio entre recuperar genomas de baja abundancia y obtener contigs largos y precisos para aquellos genomas con gran abundancia. Otra limitación es la naturaleza no clonal de los organismos dentro de una muestra (Breitwieser et al., 2019); es decir, que una muestra puede contener diferentes cepas de la misma especie, lo que puede causar ramificaciones en el gráfico de ensamblaje, al diferir en un nucleótido o la presencia/ausencia de un gen.

En general, por estos sesgos las muestras de metagenómica, rara vez tienen una cobertura profunda de una especie en particular, a menos que sea muy abundante dado que la secuenciación puede indicar el número relativo de individuos en la muestra (Cassin-Sackett et al., 2019), además los resultados de ensamble no son tan buenos como los de un solo organismo (Breitwieser et al., 2019; Cassin-Sackett et al., 2019), ambos problemas pueden resultar en la fragmentación de la reconstrucción del genoma (Quince et al., 2017). Por esto, la utilización de más de un ensamblador y más de un programa de agrupamiento suele considerarse una buena práctica para obtener mejores resultados.

De acuerdo con Kim y Steinegger (2023), no hay un único algoritmo de binning que sea óptimo para todos los tipos de ambientes o muestras, se trata más bien de utilizar múltiples algoritmos y combinar los resultados para obtener el mejor resultado posible, como en el estudio de Song y Thomas (2017). Asimismo, los MAGs han contribuido al entendimiento de la diversidad microbiana, pero es indispensable no basarse en MAGs con altos niveles de contaminación y fragmentación, ya que pueden ocasionar conclusiones erróneas (Kim & Steinegger, 2023).

Los enfoques de genes marcadores pueden identificar algunos genes por genoma, lo que hace la estimación de la abundancia más precisa (Quince et al., 2017). Al identificar genes de copia única y conservados en los contigs se puede evaluar la taxonomía, la fracción estimada del genoma y la contaminación; es imposible conocer el número de copias de un gen para una especie con un genoma incompleto (Breitwieser et al., 2019), por lo mismo se ocasiona la eliminación de varias lecturas y se complica la detección de diferencias biológicas entre los conjuntos de muestras (Breitwieser et al., 2019; Quince et al., 2017).

Entre las limitaciones de los enfoques metagenómicos shotgun específicamente en ecosistemas marinos, están la falta de información en las bases de datos de secuencias públicas, la falta de consistencia en los rangos taxonómicos que cambian continuamente, además de que se requiere de flujos de trabajo separados para cada clado taxonómico como virus, bacterias o eucariontes, lo cual puede requerir mucho tiempo y esfuerzo (Bik, 2014; Zhang et al., 2021).

## 2- La taxonomía microbiana en la era genómica

En lo que concierne al concepto de “especie biológica” utilizado para organismos eucariontes, se debe aclarar que éste difiere de aquel utilizado para organismos procariontes. El primero establece que las especies son grupos de poblaciones entrecruzadas que son reproductivamente aisladas de otros grupos (Hollocher, 2024), éste correspondería a los ecotipos en organismos procariontes. No obstante, utilizar éste concepto implicaría diversos problemas debido a la posibilidad de transferencia horizontal entre linajes aislados (Coenye et al., 2005). Es por lo

anterior que una especie bacteriana se define como "una categoría que circunscribe un grupo (preferiblemente) genómicamente coherente de aislados/cepas individuales que comparten un alto grado de similitud en (muchas) características independientes, comparativamente probadas en condiciones altamente estandarizadas" (Rosselló-Móra & Amann, 2015).

Sin embargo, con la llegada de la secuenciación de nueva generación, se dió paso al establecimiento de esquemas taxonómicos basados en la información contenida en las secuencias nucleotídicas. Cada vez es más claro que las especies microbianas pueden definirse con base en criterios genómicos como la hidrización de ADN-ADN, genómica comparativa, análisis de presencia/ausencia de genes y la estructura del genoma (Thompson et al., 2013). Lan y Reeves (2000), sugieren que se defina el genoma de una especie a partir de un pangenoma; es decir, aquel que comprende todos los genes presentes en las cepas caracterizadas de una especie; en donde el genoma consta de dos componentes, un núcleo de genes presentes en gran parte de las cepas y un conjunto auxiliar. Dada la creciente disponibilidad de secuencias genómicas, podemos decir que la taxonomía microbiana se enfocará en la genómica, pues ésta ha proporcionado una nueva y más completa visión de las especies (Coenye et al., 2005; Thompson et al., 2013).

### 3- El papel de las aves silvestres y su microbioma

#### 3.1- El microbioma asociado a animales

El microbioma es definido como los microorganismos, sus genes y los metabolitos presentes en estos (Berg et al., 2020); es indispensable mencionar que los avances en la secuenciación metagenómica permiten conocer el microbioma presente no solo en muestras ambientales, sino también en muestras asociadas a macroorganismos. Estos datos han demostrado que los microbios son omnipresentes en todos los metazoos (Simon et al., 2019). Además, se ha observado que el microbioma puede ser específico de una especie, y pudiera estar relacionado con los procesos evolutivos y filogenia del huésped (Mootapally et al., 2017).

En un principio, se consideraba que todos los microorganismos asociados a macroorganismos causaban enfermedades (Bahrndorff et al., 2016). Sin embargo, la asociación entre un macroorganismo y el conjunto de microorganismos que lo habitan puede adoptar muchas formas, siendo los patógenos la minoría (Bahrndorff et al., 2016), incluso estos microorganismos son capaces de ayudar en el cumplimiento de múltiples funciones en los animales como por ejemplo, la digestión y el sistema inmune (Czipri, 2022, Peixoto et al., 2021). Esta asociación se puede ver afectada por diversos factores bióticos y abióticos; de hecho, análisis de microbiomas de poblaciones silvestres de mamíferos y *Drosophila* han demostrado que la asociación es dependiente del habitat circundante (Bahrndorff et al., 2016).

Existe el concepto de holobionte, el cuál se refiere a una unidad cohesiva formada por el hospedero y sus microbios asociados tanto endocelulares como extracelulares (Bordenstein & Theis, 2015; Rosenberg & Zilber-Rosenberg, 2018). A pesar de que sabemos que existen múltiples clases de microorganismos; los estudios de holobiontes marinos han ignorado el papel de los virus, hongos y arqueas por enfocarse en las bacterias (Ochoa-Sánchez et al., 2023b). Con el uso de metagenómica shotgun no existe un sesgo hacia alguno de estos clados en particular, sino que se enfoca en todo lo que pueda haber, lo cuál nos permite tener un panorama más amplio sobre las comunidades microbianas.

Desafortunadamente, se ha identificado otra brecha en los estudios realizados en microbiomas; dado que la mayoría de éstos describen los microbiomas en humanos y mamíferos, como consecuencia no ha habido muchos proyectos que involucren otros grupos de vertebrados relevantes como es el caso de las aves (Wang, W. et al., 2019). Se han realizado muy pocos estudios del microbioma superficial de las plumas de las aves, existiendo la propuesta de que éste se ve más bien influenciado por el ambiente en el que viven, en lugar de ser característicos de la propia especie (Shawkey et al., 2005).

### 3.2- Importancia biológica de las aves

En lo que respecta a las aves, son la clase más especiosa entre los vertebrados terrestres (Cao et al., 2020), contiene más de 10,500 especies vivas. Ocupan una

amplia gama de nichos en todos los biomas y habitats, desde ciudades, campos, bosques, costas, montañas (Kraus, 2019) y hasta en la Antártida, como se presenta en este trabajo. Por lo que son sistemas modelo y taxones paraguas para la conservación de ecosistemas (Cassin-Sackett et al., 2019). No es de sorprender que fueron de los primeros grupos de animales en ser secuenciados (International Chicken Genome Sequencing Consortium, 2004) y el primer grupo de animales en ser secuenciados en un contexto filogenético (Jarvis et al., 2014). Es así como la genómica de este clado es un importante contribuyente a la generación de conocimientos en todas las áreas biológicas (Cassin-Sackett et al., 2019).

### 3.3- Relevancia de estudios de microbiomas en aves

Pocos estudios de metagenómica shotgun se han enfocado en estudiar aves, particularmente especies silvestres (Cassin-Sackett et al., 2019). La mayor parte de los estudios en aves se centran en aquellas de interés comercial, como pollos de engorda (Graciette et al., 2023; Potti et al., 2002); por lo que es importante mencionar la observación de que especies de todos los taxones, en condiciones de laboratorio o fragmentación del hábitat, muestran microbiomas menos diversos en comparación con las especies silvestres (Bahrndorff et al., 2016), aunque éste no siempre es el caso (Alberdi et al., 2021). Sumado a esto, entre los pocos estudios que se realizan en aves silvestres, gran parte están enfocados en el microbioma intestinal, el cual se refiere a muestras fecales, del intestino, el tracto reproductivo y/o tracto urinario (Mohsin et al., 2022).

Los microbiomas de las aves modernas tienen una composición compleja de bacterias, arqueas, virus y eucariontes (Mohsin et al., 2022). Además, los animales pueden ser colonizados por microorganismos internamente, pero también externamente como es el caso de la piel y las plumas (Czipri, 2022; Mohsin et al., 2022). En estas últimas zonas, los microorganismos pueden contribuir a la salud de la piel y la comunicación entre organismos (Czipri, 2022). No obstante, pocos trabajos se han realizado en el microbioma superficial de aves. Una comparación relevante es que las comunidades intestinales en los animales están influenciadas por la alimentación y fisiología del hospedero, por el contrario, las comunidades superficiales están principalmente influenciadas por las condiciones ambientales

que enfrenta el hospedero (Ochoa-Sánchez et al., 2023b). Lo anterior podría indicarnos que el microbioma superficial es un reflejo de lo que ocurre en el ambiente y por lo tanto, sería un buen objeto de monitoreo de la especie del pingüino de Magallanes para entender la relación ambiente-pingüino-microorganismos.

Existen pocos estudios de microbiomas en aves silvestres que se han enfocado en el plumaje (Czipri, 2022). Además, ninguno utiliza una metodología basada en metagenómica shotgun; pues es más común encontrar estudios de muestras fecales o intestinales basadas en metagenómica de amplicones 16S (también llamado metabarcoding), que si bien nos dan un panorama de la diversidad bacteriana intestinal de las especies, no brindan información sobre arqueas, hongos o virus ni acerca de la relación de la diversidad con el ambiente exterior o con el hospedero.

Un aspecto importante para realizar más esfuerzos enfocados en el estudio del microbioma de aves silvestres está en el campo de la salud; y es que éstas pueden presentar patógenos que podrían afectar tanto a su hospedero, pero igualmente ser transmitidos a humanos (Mohsin et al., 2022). Es particularmente interesante el caso de aves migratorias, pues éstas transmiten sus microorganismos a lo largo de las rutas que toman (Cao et al., 2020). Por lo tanto, conocer la diversidad de microorganismos en aves puede tener implicaciones en la salud pública.

Múltiples artículos destacan la importancia de estudiar el microbioma de organismos no modelo en la familia aviar; entre estos destacan: investigación de especies en peligro de extinción y difíciles de estudiar (Cassin-Sackett et al., 2019), uso de la información en el campo de biología de la conservación (Bahrndorff et al., 2016), identificación de población de origen o hasta firmas útiles a nivel individuo (Cassin-Sackett et al., 2019), mejorar nuestra comprensión de la diversidad y abundancia de bacterias patógenas y no patógenas en las aves (Mohsin et al., 2022), comprender las enfermedades en las aves, entender la relación del microbioma con el fenotipo (Singh et al., 2013), proporcionar información sobre la evolución de los microbios (Singh et al., 2013), así como el uso de hospederos no canónicos; es decir, organismos que típicamente no son estudiados y de regiones geográficas poco



estudiadas puede dar paso al descubrimiento de nuevas especies (Truchado et al., 2020).

#### 4- El Estrecho de Magallanes

El Estrecho de Magallanes es una ruta interoceánica ubicada en la parte sur de Sudamérica que sirve de límite entre Argentina y Chile (Infante, 1995). Debido a que existen estrechas relaciones bióticas entre las regiones del estrecho de Magallanes y la Antártida, incluso éstas son consideradas por algunos autores subdivisiones de la misma región (Arntz, 1999); parece relevante mencionar que la Antártida es un ambiente único por sus condiciones meteorológicas y geológicas extremas (radiación solar, precipitaciones, humedad en el aire, fuertes vientos, variaciones en la temperatura por estaciones, etc); así como por estar relativamente aislado de la actividad humana, lo que ocasiona que sus comunidades se mantengan prístinas (Doytchinov & Dimov, 2022). Éstas características permiten que el Estrecho de Magallanes sea usado como objeto de monitoreo sobre los efectos del calentamiento global, por lo que múltiples estudios de secuenciación de nueva generación han analizado las comunidades de éste sitio (Bermanec et al., 2019; Hayer et al., 2021; Moreno-Pino et al., 2018)

En la Antártida, las islas resultan ser las zonas más hospitalarias para la vida micro y macroscópica, incluso se han considerado “puntos críticos” de biodiversidad (Doytchinov & Dimov, 2022); por lo que ofrecen oportunidades para la investigación científica. En estas islas habitan diversos animales y hasta plantas que juegan un rol importante en la vida microbiana de la zona, debido al aumento de nutrientes (Doytchinov & Dimov, 2022). Las condiciones ambientales igualmente juegan un rol importante, ya que los microorganismos pueden adaptarse rápidamente a éstas (Doytchinov & Dimov, 2022).

Esta región juega un papel importante en la salud del ecosistema mundial por los procesos microbianos que ahí se presentan, como los ciclos de carbono, nitrógeno, azufre, fotosíntesis y adaptaciones extremófilas (Cavicchioli, 2007). Las comunidades microbianas en la Antártida se pueden dividir en varios grupos según el ambiente que ocupan, como agua, nieve, suelo o aire. Sin embargo, la mayor

parte de las investigaciones de microorganismos en la Antártida se enfocan en suelo y rocas (Doytchinov & Dimov, 2022). No obstante, la Antártida contiene una inmensa cantidad de microorganismos no cultivados ni identificados con un enorme potencial en diversos campos biológicos como producción de metabolitos y sustancias útiles; por ejemplo antibióticos, proteínas o pigmentos, aquí recae el interés de su estudio (Doytchinov & Dimov, 2022).

El uso de la secuenciación y análisis metagenómico ha brindado una comprensión integral de las comunidades microbianas que habitan la Antártida (Cardona, Drago y Gazo, 2022; Cavicchioli, 2007; Doytchinov & Dimov, 2022; Grzymiski et al., 2012; Lopatina et al., 2016; Ramírez-Fernández, 2021). El monitoreo del microbioma de la superficie de los animales de esta región es particularmente importante (Ochoa-Sánchez et al., 2023b), de modo que las especies microbianas presentes en el cuerpo del pingüino de Magallanes pueden ser diversas y presentar genes no conocidos de interés ecológico y biotecnológico; conocer su clasificación y sus potenciales funciones nos podría ayudar al entendimiento y conservación de un ambiente extremo y a sentar las bases para futuras investigaciones en plumaje de aves.

La información con la que se cuenta acerca de especies hospederas y su microbioma en regiones geográficas lejanas a comunidades humanas es casi inexistente, incluidos los datos sobre efectos ecológicos, por ejemplo cómo las aves responden a patógenos y parásitos (Barbosa & Palacios, 2009). Los investigadores han planteado la necesidad de estudiar las condiciones en las regiones al sur del planeta, sus cambios y riesgos que enfrentan, pues la Patagonia es considerada un ecosistema frágil e indispensable de preservar (Celis et al., 2023).

Varios investigadores realizan estudios para comprender mejor la compleja asociación microbiana en ambientes marinos; dado que la megafauna marina está amenazada por diversos factores (Mootapally et al., 2017). La metagenómica en las superficies de animales marinos permitirá conocer las especies microbianas que habitan en los macroorganismos, la influencia geográfica, la manifestación de enfermedades y la variabilidad taxonómica en comparación con los microbiomas de mar o de sedimentos (Mootapally et al., 2017).

## ANTECEDENTES

### 1- El pingüino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*)

Existen seis géneros de pingüinos en el mundo y cuatro especies pertenecientes al género *Spheniscus*, caracterizados por ser anillados y habitar desde zonas templadas hasta tropicales (Trathan et al., 2014). Contrario a lo que mucha gente piensa acerca de que el hábitat de los pingüinos está restringido a zonas heladas, únicamente dos de las 16-19 especies existentes (varía según los criterios de clasificación) se encuentran exclusivamente en éstas regiones (Boersma, 2008). Las especies de éste género tienen adaptaciones de comportamiento al calor y generalmente anidan en sitios sombreados como madrigueras, grietas o debajo de la vegetación porque ayudan a proteger los huevos y a los polluelos contra depredadores, radiación solar, tormentas, viento, precipitaciones y retienen el calor (Boersma & Rebstock, 2014).

El pingüino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) (**Figura 1**) resulta ser la especie más abundante en zonas templadas, específicamente de la región de Magallanes (Bingham & Jimenez-Mejias, 1999; Boersma, 2008; Recabarren-Villalón et al., 2023). Habita en colonias de hasta 500,000 parejas, que pueden extenderse hasta 1 km tierra adentro (Quintana et al., 2022) a lo largo de la costa de la Patagonia, incluyendo Argentina, Chile y las Islas Malvinas. Además, migran hacia Uruguay y Brasil después de su temporada de reproducción (Recabarren-Villalón et al., 2023).

El pingüino de Magallanes se reproduce a finales de septiembre o inicios de octubre en colonias con vegetación densa como protección (Cumplido et al., 2023; Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, s. f.). Las hembras ponen de uno a dos huevos por temporada, los cuáles eclosionan a mediados de noviembre o principios de diciembre. Una vez siendo polluelos, comienzan a volar a finales de enero y desde finales de marzo a finales de abril migran a Uruguay y Brasil (Boersma, 2008; Cumplido et al., 2023) en seguimiento a la disponibilidad de sus presas; las cuáles principalmente son peces, como la anchoveta argentina; aunque en general se consideran no selectivos y oportunistas (Marques et al., 2018).

Las aves marinas, en general, son el grupo de aves más amenazado; siendo los pingüinos el segundo taxón con mayor riesgo (Trathan et al., 2014). Hasta el 2008, solo quedaban en el mundo 43 puntos críticos con colonias reproductoras de pingüinos y no existían salvaguardas para protegerlas (Boersma, 2008). De acuerdo a la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), el pingüino de Magallanes tiene un estado de conservación de “**Casi Amenazado**” y sus poblaciones se encuentran en declive (Boersma, 2008; Cumplido et al., 2023). Las principales amenazas para su conservación son la captura incidental, competencia por las presas, enfermedades, degradación del hábitat, contaminación y cambio climático (Boersma, 2008; Trathan et al., 2014).

La importancia de la conservación de ésta especie radica en que los pingüinos son considerados centinelas marinos (Boersma, 2008; Trathan et al., 2014). Esto quiere decir que son especies utilizadas para monitorear la variabilidad y estado de los ecosistemas marinos a largo plazo; en otras palabras, estudiarlos nos proporciona información acerca de las condiciones y cambios en el ambiente que habitan dado que sus procesos poblacionales, éxito reproductivo y salud reflejan las condiciones oceánicas al estar especializados para nadar y bucear, además de que su hábitat de alimentación está muy restringido durante su temporada de reproducción (Boersma, 2008; Recabarren-Villalón et al., 2023; Trathan et al., 2014). Particularmente, su plumaje ha sido considerado como un gran objeto de monitoreo de las condiciones ambientales, debido a la acumulación de metales y oligoelementos a lo largo del ciclo de vida (Metcheva et al., 2006; Kehrig et al., 2015; Quadri-Adrogué et al., 2021; Celis et al., 2023).

Por lo anterior, los microorganismos asociados a las plumas podrían mostrar las respuestas biológicas inmediatas y significativas al cambio climático (Bottos et al., 2014). Además, se han reportado en algunas regiones antárticas microorganismos originados por actividades humanas, lo cual podría tener un efecto potencialmente devastador en la fauna (Bonnedahl et al., 2005).



Figura 1. Pingüino de Magallanes (Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, SUBPESCA)

## 2- El plumaje del pingüino de Magallanes

Existe una escasez de información acerca del plumaje, específicamente en pingüinos, añadido a que gran parte de lo que se menciona en la literatura parece ser contradictorio (Williams et al., 2015). Sin embargo, el plumaje de los pingüinos es clave para su supervivencia (Boersma et al., 2014; Kane et al., 2010; Wang, S. et al., 2016; Williams et al., 2015); pues es utilizado para las funciones de nado, protección contra el frío y selección de pareja (Czipri, 2022). Las plumas están compuestas de células organizadas, llenas principalmente de queratina, la proteína más abundante en células epiteliales y que se encuentra entre los materiales biológicos más resistentes (Wang, B. et al., 2017). Además las plumas están cubiertas de aceites y ceras complejas, producidas por la glándula uropigial (Burley et al., 2022) que ayudan a mantener la integridad de éstas, ya que tienen propiedades antifúngicas y antimicrobianas (Czipri, 2022).

En las especies del género *Spheniscus*, el plumaje normal consta de una capa al nacer, una segunda capa que lo reemplaza y posteriormente éste es igual reemplazado por un plumaje juvenil. Un año más tarde, el plumaje juvenil es igualmente reemplazado por el plumaje adulto (Kane et al., 2010). Otro rasgo acerca del ciclo de cambio de plumaje es que los pingüinos mudan anualmente (Metcheva et al., 2006), de hecho tienen la piel desnuda alrededor del pico durante la temporada de reproducción (Boersma, 2008), después de esto se encuentran completamente emplumados, exceptuando el pico y las patas. (Kane et al., 2010).

El plumaje de los pingüinos se encuentra en contacto con múltiples ambientes (Boersma & Rebstock, 2014), cada uno con sus propias comunidades de microorganismos como son el agua marina, viento, vegetación y suelo de sus madrigueras, lo que podrían ocasionar eventos de colonización de múltiples especies de bacterias, arqueas, eucariontes unicelulares y hasta virus, los cuáles se enfrentarían a subsistir bajo un nuevo ambiente que sería la estructura queratinosa que conforma a las plumas.

Existe interés en el estudio del plumaje en pingüinos, ya que son útiles para determinar la concentración de metales y otros elementos contaminantes en su entorno, los cuales pueden servir para estudios de biomonitoreo y ecotoxicología (Espejo et al., 2017; Frias et al., 2012; Kehrig et al., 2015; Quadri-Adrogué et al., 2021). Asimismo, las plumas pueden ser utilizadas en la evaluación de posición trófica y nichos isotópicos (Dodino et al., 2022).

El estudio de los microorganismos que se encuentran presentes en el plumaje de ésta ave marina, podría brindarnos un mejor entendimiento del contexto ecológico en el que se encuentra la especie, así como la función fisiológica que puede llevar a cabo dicho microbioma. Aunado a que una vez que se comprenda el microbioma de ésta especie, seguir utilizando muestras de plumas podría convertirse en un método de monitoreo microbiano no invasivo a lo largo del tiempo (Del Mar Labrador et al., 2020; Shawkey et al., 2005)

### 3- Conocimiento actual sobre los microorganismos asociados a pingüinos

#### 3.1- Microbioma de múltiples especies de pingüino

Con el advenimiento de la metagenómica, se ha mostrado interés en realizar estudios sobre el microbioma de múltiples aves marinas en el hemisferio sur. Sin embargo, estos utilizan principalmente enfoques del marcador taxonómico 16S, lo que significa que ha habido un sesgo por el clado bacteriano y además de esto; pocos se refieren a especies de pingüinos (Ochoa-Sánchez et al., 2023b). Además de utilizar los datos de 16S para comparaciones de composición comunitaria; también se han utilizado para comprender los cambios en las funciones metabólicas

previstas del microbioma fecal de los pingüinos (Tian et al., 2021). No obstante, las funciones predichas a partir de éstos datos están limitadas por la cantidad de genomas microbianos disponibles secuenciados. (Ochoa-Sánchez et al., 2023b).

Entre la literatura científica microbiomas asociados a pingüinos distintos al pingüino de Magallanes, podemos encontrar trabajos realizados principalmente en heces de pingüinos barbijo (*Pygoscelis antarcticus*) (Lee et al., 2019; Levy et al., 2020), pingüinos papúa (*Pygoscelis papua*) (Lee et al., 2019), pingüinos de Adélie (*Pygoscelis adeliae*) (Grzesiak et al., 2020; Švec et al., 2023), pingüinos galápagos (*Spheniscus mendiculus*) (Rohrer et al., 2023), pinguino pequeño (*Eudyptula minor*) (Dewar et al., 2017) y pingüino africano (*Spheniscus demersus*) (Graciette et al., 2023). Con base en estos estudios los clados *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Actinomyces*, *Petrimonas*, *Gottschalkiaceae*, *Corynebacterium*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Salmonella*, *Escherichia*, *Fusobacteria*, *Tenericutes*, *Fastidiosipila*, *Oceanisphaera* y *Psychrobacter* fueron los más comunes. Otros taxones enriquecidos en microbiomas de aves incluyen *Patescibacteria*, presente casi exclusivamente en aves silvestres y los géneros *Corynebacteriaceae* y *Catelllicoccus*, compartidos por todos los microbiomas fecales de aves aunque en muy pequeña fracción (Graciette et al., 2023); además las *Fusobacterias* se han detectado como un taxón abundante en la temporada de reproducción (Lee et al., 2019).

Estudios recientes muestran que los principales filos bacterianos asociados con los pingüinos son distintos a los de los de otras aves (Lee et al., 2019). Aunque de igual forma, existe una divergencia de la microbiota entre las especies de pingüino posiblemente atribuida a los nichos tróficos o factores geográficos (Ochoa-Sánchez et al., 2023b). Específicamente en el plumaje de las aves marinas del hemisferio sur; los principales filos bacterianos fueron *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Acidobacterias* (Leclaire et al., 2019; Ochoa-Sánchez et al., 2023b).

### 3.2- Microbioma del pingüino de Magallanes

El pingüino de Magallanes silvestre, al ser una especie altamente social, actúa como un buen candidato para que la microbiota de las plumas realice procesos

importantes en su salud, debido a las altas posibilidades de transmisión horizontal (Potti et al., 2002). Ejemplos de esto serían la coloración y la degradación de las plumas, la atracción de pareja, el desarrollo de los polluelos, la inversión reproductiva, la capacidad migratoria y las enfermedades que contraen (Rohrer et al., 2023). El estudio del plumaje del pingüino de Magallanes es muy reciente y es parte de nuestro grupo de trabajo (Ochoa-Sánchez et al., 2023b). Podemos encontrar estudios de microbioma en esta especie en zonas corporales distintas al plumaje; como son patas (Osório et al., 2013; Sellera et al., 2017; Sellera et al., 2018), intestino y/o heces (Gallo Vauley et al., 2022; Hayer et al., 2021; Potti et al., 2002; Prichula et al., 2020), así como sangre y tejidos (D'Amico y Bertellotti, 2019; Kane et al., 2012; Niemeyer et al., 2013). Estos estudios se han realizado tanto en pingüinos sanos como enfermos, siendo los clados más comunes *Corynebacterium* y *Escherichia coli* en patas y sangre, *Staphylococcus* y *Pseudomonas* en patas, *Enterococcus*, *Chlamydiaceae* y *Salmonella* en intestino/heces y *Avipoxvirus* en intestino/heces y sangre.

### 3.3- Factores que podrían influir en la composición microbiana de las plumas en el pingüino de Magallanes

Es importante tener en cuenta los factores que podrían alterar la composición de las comunidades microbianas que habitan en las plumas de los pingüinos, para lograr un mejor entendimiento de sus potenciales funciones, pues la superficie de macroorganismos se considera un ambiente extremo (Ochoa-Sánchez et al., 2023b) debido a las condiciones ambientales que enfrentan y los aceites que están presentes. Entre los factores abióticos relevantes se encuentran la temperatura, pH, concentración de nutrientes y composición química de las plumas (Cavicchioli, 2015); así como las interacciones entre miembros de la comunidad de los hospederos. Pues, no podemos olvidar lo anteriormente mencionado acerca de que las densas colonias reproductoras de los pingüinos de Magallanes están en contacto con otros animales, vegetación abundante, suelo y la dispersión eólica (Boersma & Rebstock, 2014); lo que puede facilitar la transmisión de microorganismos y por lo tanto, la presencia de éstos en el plumaje (Fagade et al., 2023).



Un factor que probablemente influya en la composición microbiana es el acicalamiento; pues las aves utilizan las secreciones de aceites y ceras complejas, producidas por la glándula uropigial para untarlas sobre el plumaje (Burley et al., 2022). Estas secreciones ayudan a mantener la integridad de las plumas, ya que tienen propiedades antifúngicas y antimicrobianas (Czipri, 2022); parece lógico pensar que estas secreciones tengan un efecto en el microbioma corporal, aunque aún se desconoce hasta que punto afecta y las diferencias de sus efectos entre los linajes de aves. Es por esto que se plantea que los mutualismos que ocurren entre microbios en el plumaje y el hospedero ocurran en condiciones especializadas, ya que el aceite uropigial sería tóxico para dichos microbios (Burley et al., 2022). Sin embargo, se ha informado de bacterias mutualistas dentro de la glándula uropigial (Bodawatta et al., 2020; Ruiz-Rodríguez et al., 2009; Soler et al., 2008).

Otro factor que sería importante considerar es la intensa muda de plumas por la que pasan anualmente todas las especies de pingüino, donde después de la época reproductiva cambian todas las plumas por nuevas, quedando imposibilitados para nadar, y por lo tanto comer, durante este periodo (Lee et al., 2019). Tendría sentido pensar que este evento tiene un gran impacto en las comunidades microbianas que albergan el plumaje, ya que actuaría como un nuevo comienzo en la conformación de las mismas. En vista de lo antes mencionado sobre el confinamiento de los pingüinos en ciertas temporadas y que permanecen largos periodos de tiempo en la misma zona; los individuos terminan teniendo contacto con sus propios excrementos (Osório et al., 2013), por lo que los microorganismos del tracto gastrointestinal podrían alterar las comunidades presentes en sus plumas.

Otros factores que se han observado como modificadores de la composición microbiana en pingüinos son el envejecimiento (Dewar et al., 2017; Grzesiak et al., 2020; Ochoa-Sánchez et al., 2023a), la acumulación de metales y otros elementos (Rohrer et al., 2023), la colonización de ectoparásitos (Muñoz-Leal et al., 2019; Ochoa-Sánchez et al., 2023b) y la contaminación (D'Amico & Bertellotti, 2019; Prichula et al., 2020).

## JUSTIFICACIÓN

Los estudios de microbioma son importantes y económicamente viables, pero se necesitan estudios más detallados, incluidos los metagenómicos, para describir a todos los microorganismos y sus potenciales funciones (Ochoa-Sánchez et al., 2023b). Ha habido múltiples sesgos en este tipo de estudios, en primer lugar éstos estudios se centran principalmente en el microbioma humano, aunque en los últimos años se han secuenciado microbiomas de varios vertebrados no humanos (Bahrndorff et al., 2016). No obstante, los estudios siguen enfocándose principalmente en mamíferos o en especies de interés comercial o domésticas (Graciette et al., 2023; Li et al., 2022; Potti et al., 2002; Seeber & Epp, 2022). En segundo lugar, el microbioma animal consta tanto de lo que existe en el interior (intestino), como el exterior (piel o plumas), sin embargo, los estudios han ignorado este hecho y han enfocado su interés en el microbioma intestinal (Rasmussen & Chua, 2023). En tercer lugar, el conocimiento que se tiene sobre los microorganismos en zonas de ambientes extremos o aislados de comunidades humanas es escaso (Doytchinov & Dimov, 2022).

Es de vital importancia realizar estudios en aves distintas a las de corral, puesto que contribuye a obtener una mejor comprensión de múltiples campos de la biología aviar, por ejemplo la verificación de funciones génicas (Cassin-Sackett et al., 2019), la virología aviar (Wang, W. et al., 2019) y de la evolución de los rasgos en escalas de tiempo cortas (microevolución) (Kraus, 2019). Asimismo, la relevancia del estudio de las plumas, en el contexto de microbiomas, es que proporcionan una vasta superficie que favorece el crecimiento de microbios, cuyos efectos sobre la salud de las aves permanecen en gran medida desconocidos (Del Mar Labrador et al., 2020; Shawkey et al., 2005). Sin embargo, existe literatura que propone que el microbioma de las plumas contribuye significativamente a la evolución de las historias de vida y el comportamiento aviar (Burley et al., 2022), aunque ninguno realizado en pingüinos. Además, hay una urgencia por determinar cómo la vida será afectada por los cambios en los ecosistemas y es indispensable mejorar el entendimiento de las composiciones y dinámicas microbianas que tienen papeles importantes en los ciclos biogeoquímicos (Cavicchioli, 2015).

La importancia de la realización de ésta investigación es que contribuye al descubrimiento y comprensión de la biodiversidad microbiana en regiones geográficas, zonas anatómicas y hospederos poco estudiados; así como sus papeles ecológicos. Múltiples autores han recalcado la necesidad de contar con un conocimiento base de los microorganismos ambientales y asociados a organismos poco estudiados o en riesgo por el cambio climático, para comprender tanto el estado del hospedero, como el de su entorno, pues se cree que el propio microbioma puede utilizarse como biosensor de estos (Cao et al., 2020; Cavicchioli, 2007; Doytchinov & Dimov, 2022; Graciette et al., 2023; Ochoa-Sánchez et al., 2023b; Rohrer et al., 2023; Vibin et al., 2018; Vibin et al., 2020; Wang, W. et al., 2019). Este trabajo, pretende cumplir con la cimentación de conocimientos bases, relacionados a los microorganismos epibióticos del plumaje de los pingüinos.

## **OBJETIVOS**

### **Pregunta de investigación**

¿Cuál es la diversidad taxonómica y las funciones potenciales de los microorganismos que habitan en el plumaje del pingüino de Magallanes?

### **General**

Conocer la taxonomía y funciones potenciales presentes en el microbioma corporal del pingüino de Magallanes utilizando herramientas metagenómicas.

### **Específicos**

1. Recuperar y ensamblar genomas de buena calidad resultantes de la secuenciación de datos metagenómicos del plumaje del pingüino de Magallanes.
2. Asignar la taxonomía de los MAGs resultantes de la secuenciación de la microbiota asociada al plumaje del pingüino de Magallanes.
3. Realizar una anotación funcional general de éstos MAGs para conocer sus potenciales capacidades metabólicas.

## HIPÓTESIS

H0: Debido a que el pinguino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) tiene contacto con múltiples ambientes, esperamos que el microbioma de sus plumas será un reflejo de esos ambientes, por lo que los MAGs no presentarían en sus funciones adaptaciones particulares a relacionarse con su hospedero.

HA: Es posible que el microbioma de las plumas del pinguino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) sea particular a la especie y no un reflejo de sus ambientes. Entonces, esperaríamos que los MAGs reflejen en sus genes la asociación huésped-hospedero.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 1- Diseño de muestreo

De un total de cinco islas localizadas en el Estrecho de Magallanes (**Figura 2.a**), siendo éstas Contramaestre, Monmouth, Tuckers 1, Tuckers 2 y Rupert (**Figura 2.b**), se tomaron muestras del plumaje del pecho, espalda y/o patas o hisopos esterilizados recorridos por estas partes de múltiples individuos de la especie del pingüino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*). Todas las muestras de cada metagenoma estaban localizados en la misma isla y fueron muestreados alrededor de 3 temporadas; cortejo (octubre-noviembre), puesta de huevos (diciembre-enero) y cría de juveniles (enero-febrero) de los años 2021 hasta 2023 (**Tabla 1**).

Se obtuvieron pools de ADN con el kit de extracción FastDNA™ SPIN para suelos (MPBio, Santa Ana, CA, EUA) siguiendo las instrucciones del fabricante con un paso de incubación inicial a 56 °C durante 20 min, seguido de agitación con Fast Prep a 6m/s durante 40s. Las extracciones de ADN se concentraron utilizando un SpeedVac Thermo Savant (modelo DNA 120-230; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) durante 30 minutos con condiciones estándar, lo que redujo el volumen a la mitad (es decir, de 100 a 50 µl).

Las muestras de pools de ADN fueron enviadas a la empresa Macrogen en Corea del Sur, en donde se utilizó el kit NEXTERA DNA XT (META) para la preparación de bibliotecas y posteriormente se realizó la secuenciación de metagenómica shotgun de lecturas pareadas (paired-end) y un tamaño de fragmento de 151 pares de bases con la plataforma NovaSeq 6000 de Illumina, de acuerdo al protocolo de la empresa para obtener trece metagenomas.

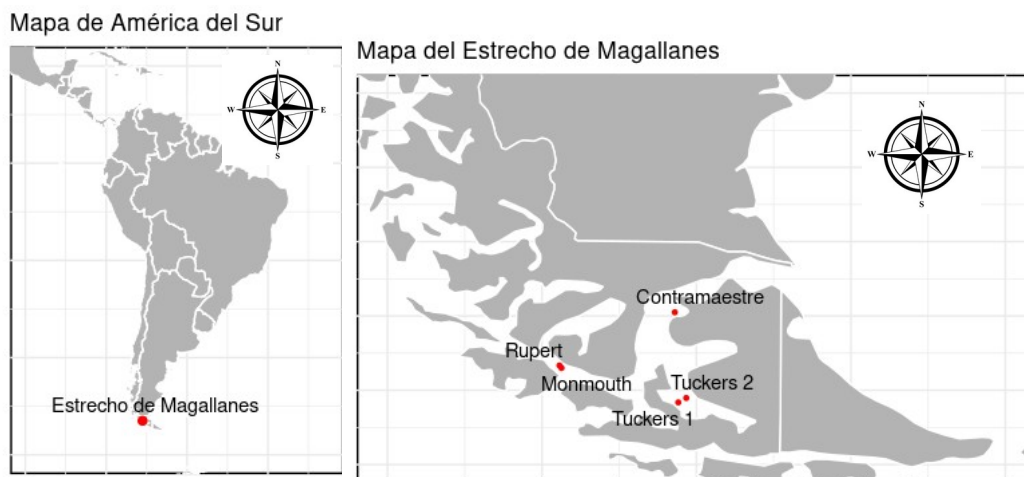


Figura 2 a) Mapa de América del Sur indicando la localización del Estrecho de Magallanes. b) Mapa del Estrecho de Magallanes indicando las cinco islas muestreadas para este estudio: Contramaestre (dos metagenomas), Monmouth (dos metagenomas), Rupert (tres metagenomas), Tuckers 1 (tres metagenomas), Tuckers 2 (tres metagenomas).

Identificación de metagenoma	Muestras de las que provienen	Isla	Fecha de muestreo
MG1_Con_01_21	Pool de hisopos pata, plumaje de lomo y una pluma completa de pecho	Contramaestre	Enero 2021 (puesta de huevos y cría de juveniles)
MG2_Tu1_01_22	Pool de hisopos pata, plumaje lomo, plumaje pecho	Tuckers 1	Enero 2022 (puesta de huevos y cría de juveniles)
MG3_Tu2_01_22	Pool de hisopos pata, plumaje lomo, plumaje pecho	Tuckers 2	Enero 2022 (puesta de huevos y cría de juveniles)
MG4_Con_02_22	Pool de hisopos pata, plumaje lomo, plumaje pecho	Contramaestre	Febrero 2022 (cría de juveniles)
MG6_Tu1_10_22	Plumas de lomo y pecho	Tuckers 1	Octubre 2022 (cortejo)
MG7_Tu2_10_22	Plumas de lomo y pecho	Tuckers 2	Octubre 2022 (cortejo)
MG8_Rup_10_22	Hisopos frotados a distancia del pingüino (pingüino estaba dentro del nido)	Rupert	Octubre 2022 (cortejo)
MG9_Rup_12_22	Plumas lomo y pecho	Rupert	Diciembre 2022 (puesta de huevos)

MG10_Mon_12_22	Hisopos frotados a distancia del pingüino (pingüino estaba dentro del nido)	Monmouth	Diciembre 2022 (puesta de huevos)
MG13_Tu1_01_23	Plumas de lomo y pecho	Tuckers 1	Enero 2023 (puesta de huevos y cría de juveniles)
MG14_Tu2_01_23	Plumas de lomo y pecho	Tuckers 2	Enero 2023 (puesta de huevos y cría de juveniles)
MG16_Rup_01_23	Plumas lomo y pecho	Rupert	Enero 2023 (puesta de huevos y cría de juveniles)
MG17_Mon_01_23	Plumas lomo y pecho	Monmouth	Enero 2023 (puesta de huevos y cría de juveniles)

Tabla 1. Descripción de cada uno de los metagenomas utilizados en éste estudio.

## 2- Análisis bioinformático

El procedimiento para los análisis de esta tesis está basado en lo que mencionan Quince et al. (2017) acerca de los estudios de metagenómica shotgun; de manera breve y en orden cronológico consistió en: 1) pre-procesamiento de muestras, 2) ensamble de secuencias 3) proceso de agrupamiento, 4) obtención de genomas a partir de metagenomas (MAGs), 5) determinar la clasificación taxonómica de estos MAGs, 6) determinar las rutas metabólicas que están presentes y por último 7) visualización de los resultados.

### 2.1- Pre-procesamiento de muestras

El primer paso que se realizó fue el análisis de la calidad de las lecturas crudas pareadas de secuenciación mediante el programa bioinformático FASTQC versión 0.11.8 (Andrews, 2010) con los parámetros default. Al analizar los archivos resultantes se decidió qué filtros aplicar para el siguiente paso, con base en la calidad de las secuencias y el contenido de secuencia por base, éste último se encontraba inestable al inicio de cada lectura, lo cual puede ser normal al inicio de la secuenciación (Babraham Bioinformatics, s. f.).



El paso siguiente, consistió en la eliminación de secuencias de calidad Phred menor a 20, tamaño mínimo de cada lectura de 36 pares de bases y cortar las últimas 3 y primeras 10 bases de cada lectura debido a la inestabilidad del contenido de bases al inicio de cada lectura con la ayuda del programa Trimmomatic versión 0.39 (Bolger et al., 2014) (**Apéndice 1**).

Después del filtrado por calidad, las secuencias se mapearon al genoma de referencia humano (GR38) y al del pingüino de Magallanes obtenidos de NCBI (Sayers et al., 2021) para la eliminación de aquellas secuencias que podrían ser producto de contaminación debido a la manipulación al momento de la recolección y extracción de ADN o por ser provenientes del organismo hospedero. Éste paso se realizó utilizando los programas bowtie2 versión 2.4.1 (Langmead y Salzberg, 2012) y samtools version 1.7 (Danecek et al., 2021) (**Apéndice 2**).

## 2.2- Obtención de contigs

Posteriormente, con los archivos resultantes se realizaron dos ensamblajes de cada metagenoma (**Apéndice 3**) utilizando los programas MEGAHIT versión 1.2.9 (Li et al., 2015) y metaSPADES versión 3.15.5 (Nurk et al., 2017) con la finalidad de poder comparar la calidad de cada ensamblaje y seleccionar el mejor para los siguientes pasos basado en criterios como N50, N75, L50, L75, número y longitud de contigs. La comparación de ambos se realizó con el uso del software QUASt (MetaQuast) versión 5.0.2 (Gurevich et al., 2013) (**Apéndice 4**). Para ser consistentes y evitar sesgos posteriores, se seleccionó el mismo ensamblador para todos los metagenomas.

## 2.3- Agrupamiento

Una vez seleccionado el mejor ensamblaje se realizó el proceso de agrupamiento de todos los archivos, el cual consiste en agrupar contigs como especies. Para esto, se utilizaron 3 herramientas bioinformáticas (**Apéndice 5**): metabat2 version 2.5 (Kang et al., 2019), metaCOAG version 1.0 (Mallawaarachchi & Lin, 2022a & b) y maxbin2 version 2.2.7 (Wu et al., 2015) ya que cada una utiliza diferentes criterios para la asignación de bins. Por lo tanto, se realizó un refinamiento con los resultados de los

3 algoritmos para combinarlos y mejorarlos utilizando el script de R de Binning\_refiner (Song & Thomas, 2017) (**Apéndice 6**).

#### 2.4- Obtención de genomas a partir de metagenomas (MAGs)

Con el uso de CheckM versión 1.1.6 (Parks et al., 2015) se analizó la calidad de los bins resultantes (**Apéndice 7**), seleccionando aquellos que tuvieran más del 70% de fracción estimada del genoma y un nivel de contaminación menor a 10%, obteniendo así lo que consideramos genomas ensamblados metagenómicamente (MAGs), los cuales son indispensables para descubrir la diversidad de bacterias al ser comparados con diversas bases de datos.

#### 2.5- Clasificación taxonómica

Al obtener los resultados de CheckM se utilizó el software GTDB-Tk version 2.3.2 (Chaumeil et al., 2019) (**Apéndice 8**) para realizar la asignación taxonómica de aquellos MAGs que cumplieran con los criterios antes mencionados. Asimismo, se realizó una anotación de los archivos resultantes de Binning\_refiner utilizando prokka versión 1.14.6 (Seemann, 2014) (**Apéndice 9**) y posteriormente la búsqueda de genes ortólogos con el uso del software Orthofinder versión 2.5.4 (Emms & Kelly, 2019) para obtener un árbol filogenético (**Apéndice 10**). Posteriormente, se calculó la identidad promedio de nucleótidos con fastANI versión 1.33 (Jain et al., 2018) (**Apéndice 11**) de ciertos MAGs que resultaron agruparse.

Un segundo árbol filogenético con los MAGs fue reconstruido de la misma manera anotando con prokka versión 1.14.6 (Seemann, 2014) y utilizando Orthofinder versión 2.5.4 (Emms & Kelly, 2019); ésta vez añadiendo genomas completos de 7 de los clados con los que fueron identificados los MAGs, éstos fueron descargados de la base de datos de NCBI con el propósito de corroborar los resultados anteriores.

## 2.6- Anotación funcional

Por medio del programa Get\_Homologues versión 3.4.3 (Contreras-Moreira y Vinuesa, 2013) (**Apéndice 12**) se obtuvo una matriz pangenómica, la cual es útil para analizar la distribución de genes entre genomas de organismos relacionados. Después, con ésta matriz y los programas KofamScan versión 1.3.0 (Aramaki et al., 2019) y KEGG-decoder (Graham et al., 2018) (**Apéndice 13**) se determinó que vías metabólicas están presentes en los MAGs.

## 2.7- Visualización de resultados

Finalmente, para proporcionar detalles sobre la composición de la comunidad microbiana y procesos metabólicos, todos los resultados son visualizados. Este paso se realizó con la plataforma interactiva iTol version 6.8.1 (Letunić & Bork, 2021) para visualizar el árbol filogenético, así como la anotación funcional.

## 3- Consideraciones éticas

Los pingüinos de Magallanes fueron capturados y contenidos por un equipo calificado de al menos tres operadores siguiendo los lineamientos bioéticos del Comité de Ética, Bioética y Bioseguridad, Universidad de Concepción (protocolo número CEBB 1081-2021). El muestreo se realizó siguiendo los lineamientos aprobados por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (resoluciones E-2021-531; RES. EX. 3315).

## RESULTADOS

### 1- Pre-procesamiento de las muestras

Durante el proceso de recorte de secuencias y mapeo contra los genomas de humano y pingüino de las trece muestras metagenómicas; el número de lecturas fue disminuyendo debido a los filtros aplicados. El número de lecturas finales con las que se realizaron los análisis posteriores van desde 813,137 hasta 33,879,439 . En la **Tabla 2** se muestran las lecturas resultantes de cada filtro.

Metagenoma	Lecturas Crudas	Lecturas recortadas	Lecturas filtradas contra genoma humano	Lecturas filtradas contra genoma humano y pingüino
MG1_Con_01_21	24,176,600	14,975,120	14,906,780	813,137
MG2_Tu1_01_22	30,23,473	2,181,002	2,156,697	1,634,808
MG3_Tu2_01_22	24,823,439	18,810,217	18,727,075	18,640,489
MG4_Con_02_22	983,993	578,447	576,061	529,469
MG6_Tu1_10_22	22,460,665	14,326,414	14,320,989	14,292,679
MG7_Tu2_10_22	6,025,841	4,178,809	4,173,258	4,084,901
MG8_Rup_10_22	2,920,430	1,744,165	1,741,348	1,732,682
MG9_Rup_12_22	24,031,701	12,611,369	12,606,405	12,598,405
MG10_Mon_12_22	24,096,041	16,128,615	16,123,988	16,112,095
MG13_Tu1_01_23	23,470,172	14,743,860	14,738,275	14,466,206
MG14_Tu2_01_23	43,897,324	31,310,264	31,184,846	5,220,159
MG16_Rup_01_23	47,710,108	33,941,234	33,919,590	33,879,439
MG17_Mon_01_23	29,686,188	19,318,495	19,309,825	19,209,270

Tabla 2. Total de lecturas resultantes en cada paso del pre-procesamiento

### 2- Obtención de contigs

Al comparar ensamblajes de un genoma buscamos que el número de contigs sea el menor y que la longitud de estos sea la más larga (Instituto Nacional de Investigaciones Humanas de Estados Unidos, NIH). Asimismo, el N50 es otra métrica ampliamente utilizada como criterio de que tan completo se encuentra el ensamblado de un genoma; esta consiste en el ordenamiento de mayor a menor del tamaño de los contigs hasta obtener un 50% del tamaño total del genoma, siendo el N50 el valor del último contig añadido (Videvall, 2017); por lo tanto mientras más alto sea su valor es mejor.

Basándonos en lo anterior y los gráficos resultantes de QUASt, el software que resultó generar mejor calidad de secuencias en general para 12 de los 13 metagenomas (92.30%) fue SPADES; como consecuencia de esto además de ser consistentes y evitar sesgos, los ensamblados generados con este software fueron los seleccionados para los pasos posteriores.

### 3- Agrupamiento y obtención de MAGs

A partir de los 13 metagenomas con los que se realizó la investigación; se pudo recuperar un total de 112 bins al pasar por los algoritmos de los tres softwares utilizados y refinados con Binning\_refiner, de los cuales según los resultados de CheckM, la mayor parte de estos resultaron estar incompletos aunque poco contaminados (**Figura 3**).

La fracción estimada del genoma y la contaminación se refieren al número de marcadores moleculares de copia única presentes en el bin y los marcadores que podrían pertenecer a otro clado respectivamente, de modo que sirven como criterio para determinar que bins tienen mejor calidad, lo que se busca es que tengan mayor valor de fracción estimada del genoma y el menor posible de contaminación (Chen et al., 2020). Tomando en cuenta lo anterior; únicamente 16 bins (14.28% del total de bins, 12.42% de todas las secuencias) lograron obtener los criterios para ser considerados MAGs dado que los niveles de fracción estimada del genoma de éstos van desde 71.53% hasta 99.51% y los niveles de contaminación se encuentran de 0% a 2.39%.

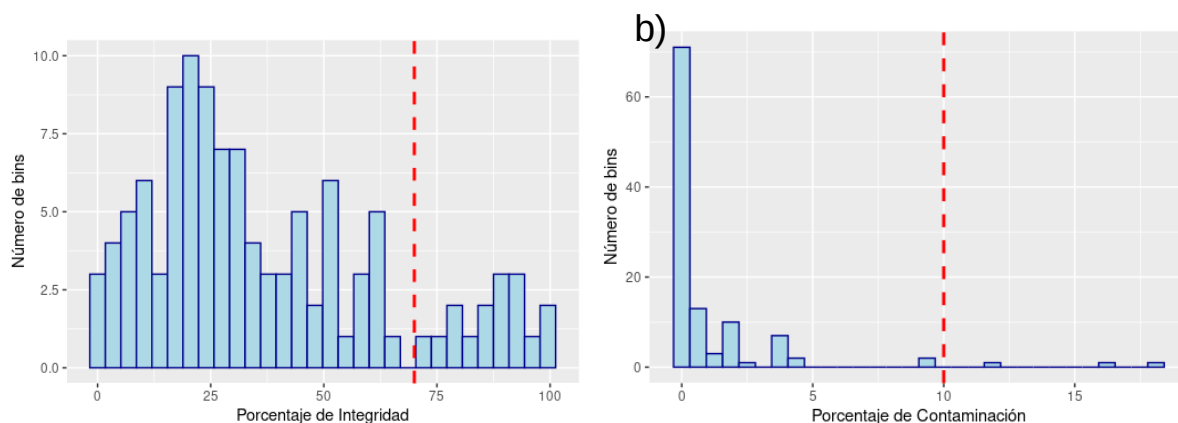


Figura 3. a) Histograma del porcentaje de integridad con el que cuentan los bins recuperados, la línea roja indica el valor de corte para que sean considerados con una buena integridad (>70%). b) Histograma del porcentaje de contaminación con el que cuentan los bins recuperados, la línea roja indica el valor de corte para que sean considerados con poca contaminación (<10%).

No fue posible obtener MAGs a partir de todos los metagenomas, pues únicamente 7 de los trece metagenomas (53.84%) lograron tener por lo menos un MAG, siendo aquellos con los identificadores iniciando con MG1, MG3, MG6, MG7, MG13, MG14 y MG17. Esto significa que en total se cuenta con 1 MAG de la isla Contra maestre, 5 MAGs de la isla Tuckers 1, 6 de la isla Tuckers 2, 1 de la isla Rupert y 3 de la isla Monmouth, asimismo se cuenta con 12 MAGs (75%) del periodo de puesta de huevos o cría y 4 (25%) de la temporada de cortejo.

#### 4- Clasificación taxonómica

Con respecto a la clasificación taxonómica realizada con GTDB-tk, en la **Tabla 3** podemos visualizar los resultados de cada uno de los MAGs obtenidos en este estudio; donde es relevante mencionar que no se encontraron arqueas, pues todos los MAGs fueron clasificados bajo el dominio Bacteria. Dentro de estos se encontraron 4 filos, los cuales constan de Bacteroidota, Pseudomonadota, Actinomycetota y Bacillota, siendo Pseudomonadota el más predominante con 11 MAGs clasificados bajo este clado (68.75%).

MAG	Isla	Filo	Clase	Orden	Familia	Género	Especie
MG6-4	Tuckers 1	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Weeksellaceae	Kaistella	x
MG6-5	Tuckers 1	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG3-2	Tuckers 2	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Paenalcaligenes	x
MG14-1	Tuckers 2	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG7-1	Tuckers 2	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG13-2	Tuckers 1	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG6-3	Tuckers 1	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG3-1	Tuckers 2	Actinomycetota	Actinomycetia	Actinomycetales	Dermatophilaceae	Terracoccus	x
MG16-3	Rupert	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG3-3	Tuckers 2	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	DSM-6294	Venatoribacter	x
MG17-3	Monmouth	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Psychrobacter	x
MG17-4	Monmouth	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG17-2	Monmouth	Actinomycetota	Actinomycetia	Propionibacteriales	Propionibacteriaceae	Arachnia	x
MG1-1	Contramaestre	Bacillota	Bacilli	Staphylococcales	Staphylococcaceae	Mammaliococcus	Mammaliococcus sciuri
MG3-4	Tuckers 2	Bacillota	Bacilli	Bacillales	Amphibacillaceae	Pseudogracilibacillus	x
MG13-4	Tuckers 1	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Psychrobacter	x

Tabla 3. Clasificación taxonómica de cada MAG.

Bajo el clado a nivel clase se encontraron Bacteroidia, Gammaproteobacteria, Actinomycetia y Bacilli, siendo Gammaproteobacteria la más abundante con 11 MAGs (68.75%) y respecto a los ordenes encontramos Flavobacteriales, Pseudomonadales, Burkholderiales, Actinomycetales, Propionibacteriales, Staphylococcales y Bacillales\_D.

Dentro de las familias en las que fueron clasificados todos los MAGs se encuentran *Weeksellaceae*, *Moraxellaceae*, *Burkholderiaceae\_C*, *Dermatophilaceae*, *DSM-6294*, *Propionibacteriaceae*, *Staphylococcaceae* y *Amphibacillaceae*. Entre las cuáles 9 MAGs (56.25%) resultaron pertenecer a *Moraxellaceae*.

No todos los MAGs lograron ser identificados a nivel de género, únicamente 9 MAGs (56.25%) fueron clasificados dentro de 8 géneros siendo estos *Kaistella*, *Paenalcaligenes*, *Terracoccus*, *Venatoribacter*, *Psychrobacter*, *Arachnia*, *Mammaliicoccus* y *Pseudogracilibacillus*. Además, solo un MAG (6.25%) logró ser identificado a nivel de especie, clasificado como *Mammaliicoccus sciuri*.

La **Figura 4** muestra el árbol filogenético resultante de Orthofinder con únicamente los MAGs obtenidos. Se asignó el nombre a cada MAG con la taxonomía más específica que se pudo identificar. Uno de los hallazgos más relevantes es la formación de un clado monofilético de 6 de los 7 MAGs identificados como pertenecientes a la familia *Moraxellaceae* cuyo género no logró ser determinado. La identidad promedio de nucleótidos entre cada uno de los MAGs del clado monofilético resultó ser de mayor de 99%.

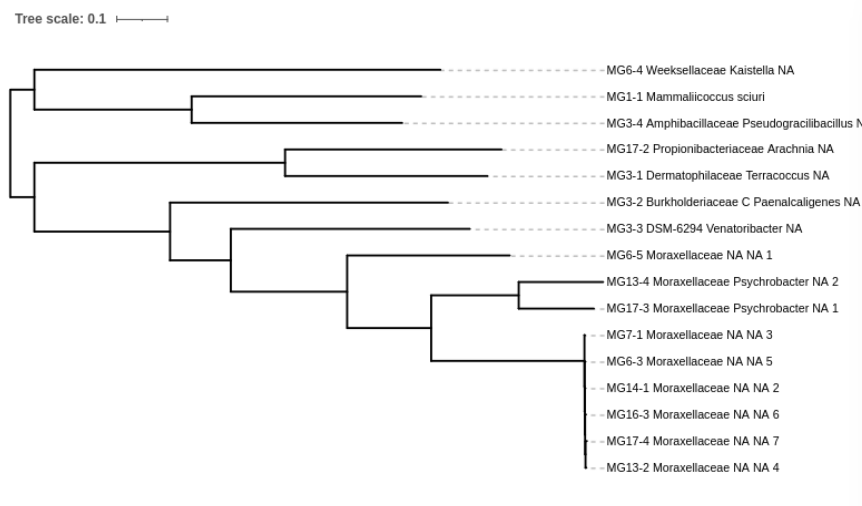


Figura 4. Árbol filogenético de los 16 MAGs resultantes.

Un total de doscientos diecisiete genomas pertenecientes a los clados de *Burkholderiaceae*, *Dermatophilaceae*, *Mammaliicoccus*, *Moraxellaceae*, *Pseudogracilibacillus*, *Venatoribacter* y *Weeksellaceae* fueron utilizados para realizar el segundo árbol filogenético con genomas descargados de NCBI mostrado en la **Figura 5**. En este podemos observar con mayor precisión si la clasificación taxonómica por GTDB-tk concuerda con la filogenia, lo cual parece ser así, cada clado está representado por un color y la posición donde se encuentran los MAGs se encuentra señalada por medio de un punto rojo.



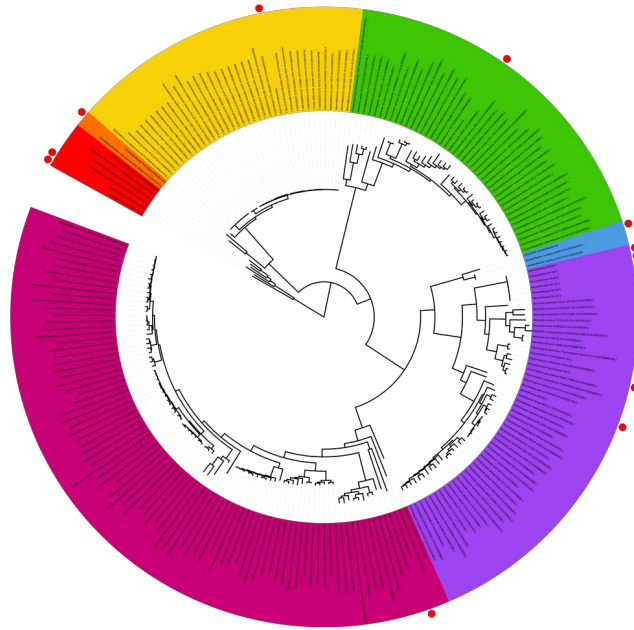


Figura 5. Árbol filogenético de 217 genomas de los clados *Burkholderiaceae* (morado), *Dermatophilaceae* (rojo), *Mammaliicoccus* (amarillo), *Moraxellaceae* (violeta), *Pseudogracilibacillus* (naranja), *Venatoribacter* (azul) y *Weeksellaceae* (verde) junto con los 16 MAGs (señalados con un punto rojo).

De ésta figura podemos concluir que los MAGs fueron asignados correctamente, pues su clasificación resultante de GTDB-tk concuerda con el sitio en el que se encuentran dentro de la filogenia. Asimismo, cabe resaltar que el clado monofilético dentro de *Moraxellaceae* sigue manteniéndose y no parecen tener parientes cercanos, al igual que los MAGs clasificados dentro de *Burkholderiaceae* (MG3-2) y en *Venatoribacter* (MG3-3).

Uno de los MAGs clasificados en *Moraxellaceae* que no está en el clado monofilético parece compartir un ancestro en común con el género *Acinetobacter*. El MAG clasificado en *Pseudogracilibacillus*, tiene como pariente más cercano a *Pseudogracilibacillus auburnensis*, pero quizás es porque es el único genoma del género que se utilizó. Asimismo, los dos MAGs que se clasificaron en *Psychrobacter*, tienen como pariente cercano a *Psychrobacter arenosus* y *Psychrobacter urativorans* respectivamente. En general, parece ser que todos los MAGs a excepción de MG1-1 clasificado como la especie *Mammaliicoccus sciuri* representan nuevas especies descubiertas.

## 5- Anotación funcional

Se utilizaron los programas Kofamscan y keggdecoder para la anotación funcional y se obtuvo una matriz con 178 rutas. Sin embargo, solo 156 resultaron estar presentes en alguno de los MAGs. Entre las rutas que se evaluaron su presencia/ausencia encontramos metabolismo del carbono, nitrógeno, metano, fósforo, azufre, rutas de fotosíntesis, diferentes tipos de fermentación, sistemas de secreción, producción de biopelículas, transportadores de elementos, biosíntesis de vitaminas y aminoácidos. En la **Figura 6a-d** se muestra el árbol anterior junto con un mapa de calor de las rutas metabólicas presentes en los 16 MAGs, en donde el color amarillo indica ausencia y la intensidad de rojo indica una presencia incompleta o completa, se ha dividido en 4 sin algún criterio específico, pero se encuentran en el orden en que aparece los resultados de Kofamscan y KEGG-decoder para mejorar la visibilidad de las rutas. Además, en el **Apéndice 14** se muestra una tabla indicando de las rutas completas, incompletas y ausentes en cada uno de los MAGs.

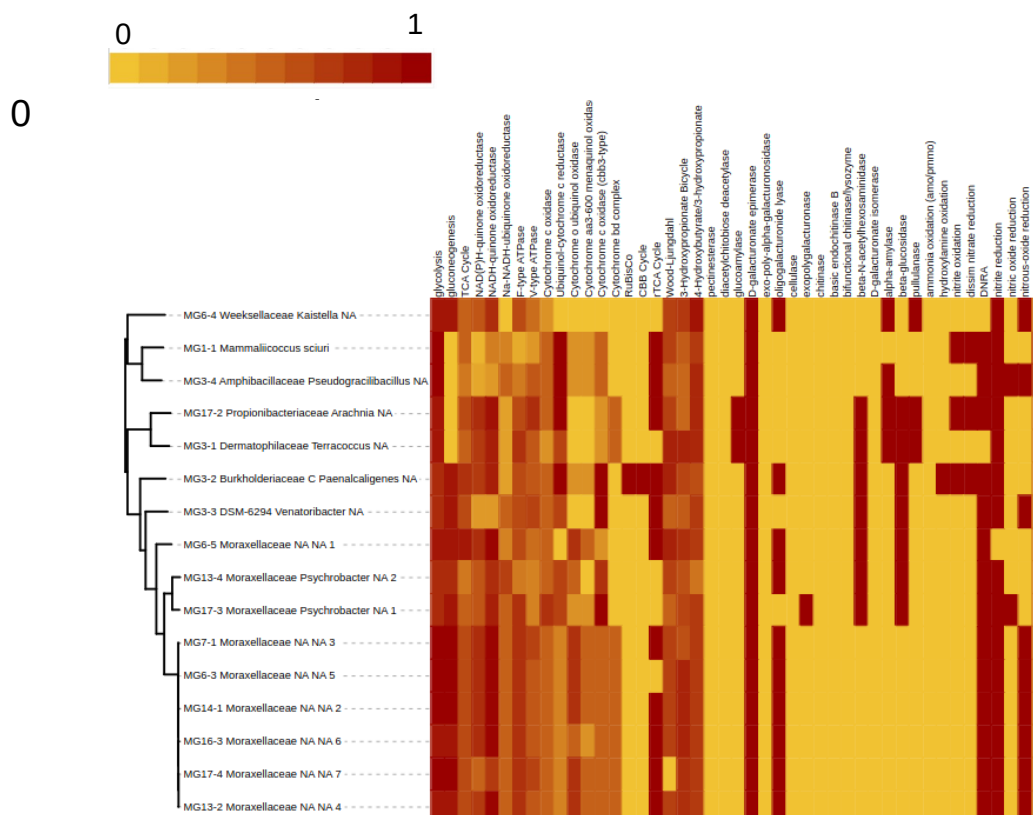


Figura 6. a) Árbol filogenético y mapa de calor de los genes codificantes a rutas metabólicas presentes en los MAGs. El color amarillo representa la ausencia de la ruta, mientras que el color rojo representa la presencia.

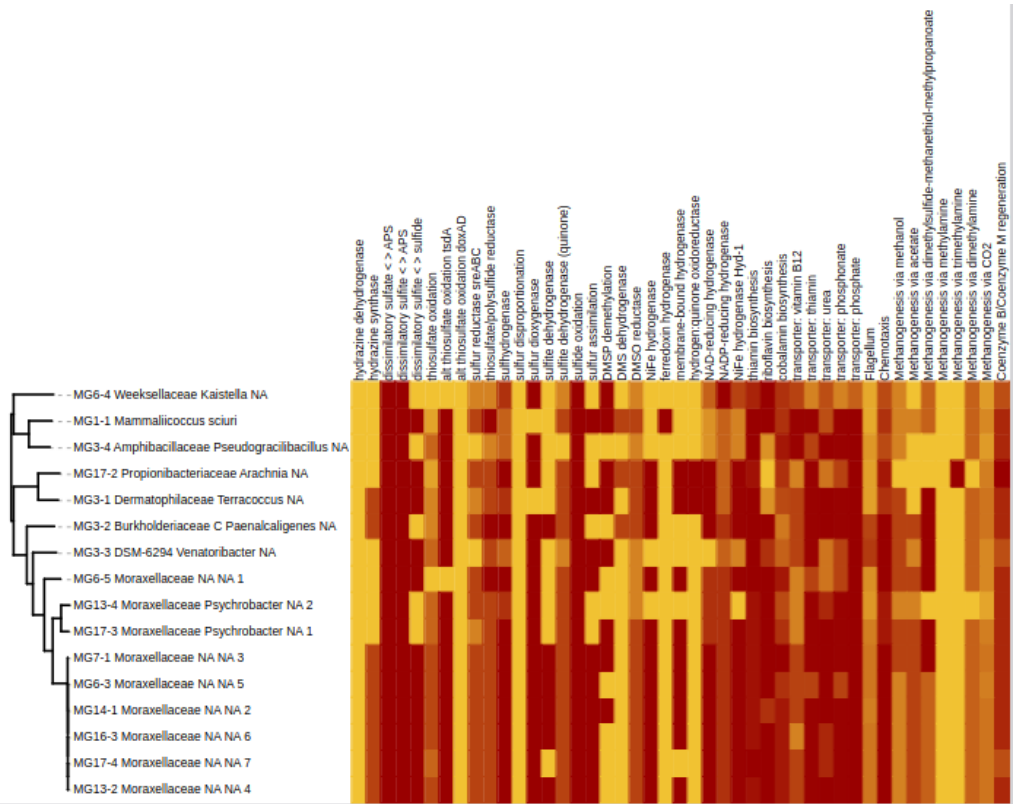


Figura 6.

b) Árbol filogenético y mapa de calor de los genes codificantes a rutas metabólicas presentes en los MAGs, mientras que el color rojo representa la presencia.

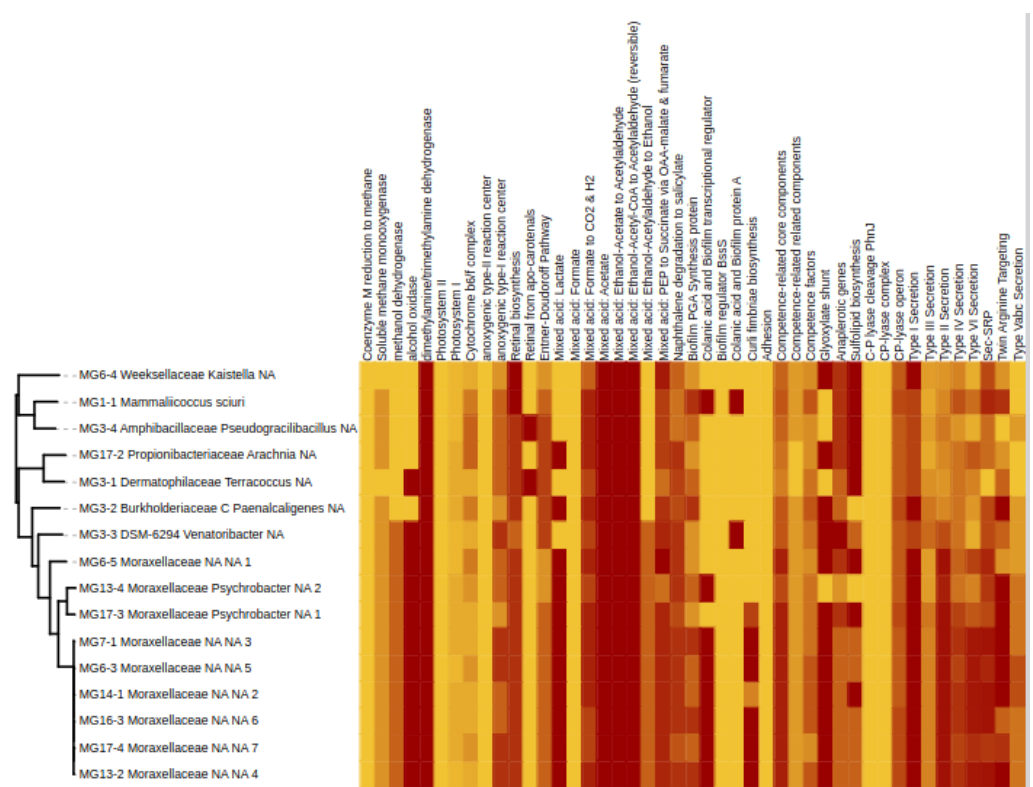


Figura 6. c) Árbol filogenético y mapa de calor de los genes codificantes a rutas metabólicas presentes en los MAGs, mientras que el color rojo representa la presencia.

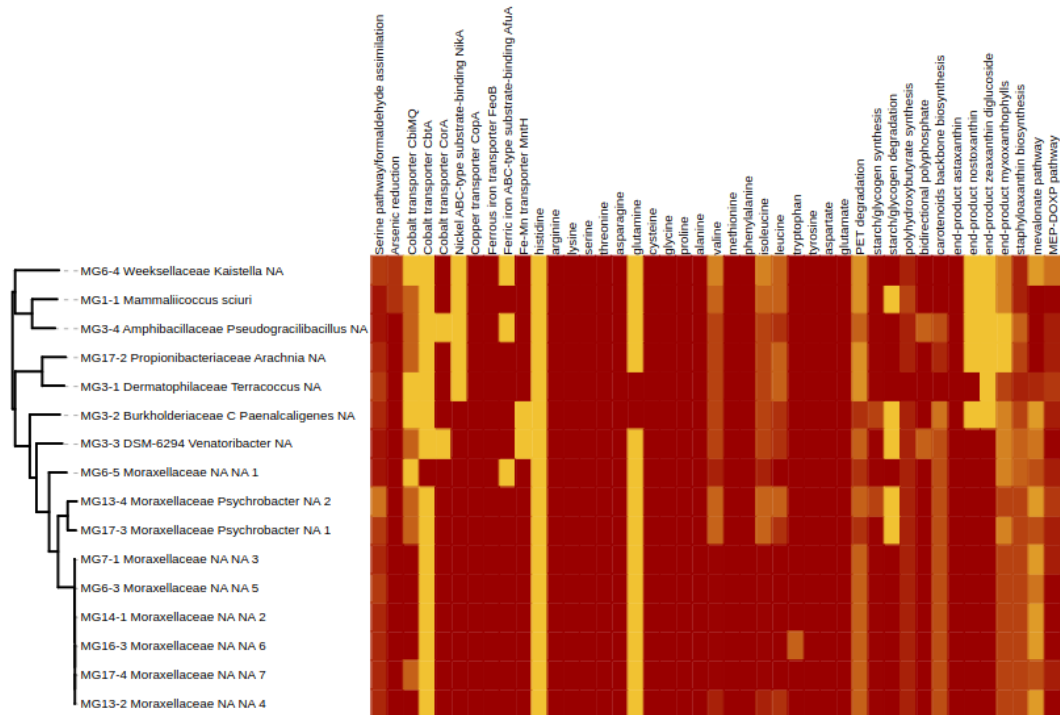


Figura 6. d) Árbol filogenético y mapa de calor de los genes codificantes a rutas metabólicas presentes en los MAGs, mientras que el color rojo representa la presencia.

Se encontraron las siguientes rutas completamente ausentes en todos los MAGs: pectinesterasa, diacetilquitobiosa desacetilasa, exo-poli-alfa-galacuronosidasa, celulasa, quitinasa, endoquitinasa básica B, quitinasa bifuncional, D-galacturonato isomerasa, oxidación de amoniaco, hidracina deshidrogenasa, oxidación de tiosulfato alternativa doxAD, desproporción de azufre, metanogénesis vía metilamina, reducción de coenzima M a metano, fotosistema II, fotosistema I, centro de reacción anoxigénico tipo II, ácido mixto:formato, regulador de biopelículas BssS, adhesión, escisión de C-P liasa PhnJ, complejo C-P liasa y la más interesante, la histidina (**Apéndice 14**).

Por el contrario, las rutas completas en todos los MAGs son la D-galacturonato epimerasa, sulfato disimilatorio  $\leftrightarrow$  APS, sulfito disimilatorio  $\leftrightarrow$  APS, síntesis de tiamina, dimetilamina/trimetilamina deshidrogenasa, ácido mixto:formato a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>, ácido mixto:acetato, ácido mixto:etanol (acetato a acetaldehído), ácido mixto:etanol (acetaldehído a etanol reversible), transportador de cobre CopA, transportador de hierro ferroso FeoB, arginina, lisina, serina, treonina, asparagina, cisteína, glicina, prolina, alanina, metionina, fenilalanina, tirosina, aspartato, glutamato, síntesis de polihidroxitirato y producto final astaxantina (**Apéndice 14**).

Las rutas que se encuentran incompletas en todos son: glicolisis, ciclo TCA, Na-NADH-ubiquinona oxidoreductasa, ATPasa tipo F, ATPasa tipo V, citocromo c oxidasa, 3-hidroxiopropionato cicliclo, 4-hidroxiбутирато, fijación de nitrógeno, DMSO reductasa, flagelo, metanogénesis vía CO<sub>2</sub>, centro de reacción anoxigénico tipo I, ruta Entner-Doudoroff, degradación de naftaleno a salicilato, proteína de síntesis de biopelícula PGA, factores de competencia, operon C-P liasa, sistema de secreción tipo IV, degradación de PET, biosíntesis de estafiloxantina (**Apéndice 14**). Las demás rutas en las figuras que no se mencionan en el texto se encuentran completas en algunos MAGs pero ausentes o incompletas en otros (**Apéndice 14**).

Con la **Figura 5** se observa que el clado monofilético de *Moraxellaceae* que se visualiza en el árbol resulta consistente con el mapa de calor, pues los patrones de las rutas presentes en éstos 6 MAGs se ven similares entre ellos, aunque cada genoma tiene sus particularidades, ésto podría explicarse por el grado de fracción estimada del genoma de cada uno.

## DISCUSIÓN

A partir de muestras del plumaje del pingüino de Magallanes, se lograron obtener 16 genomas ensamblados a partir de metagenomas (MAGs) de buena calidad y se obtuvo su clasificación taxonómica completa hasta el nivel de familia para todos, a nivel de género únicamente 9 MAGs (56.25%) tuvieron clasificación y solo un MAG (6.25%) logró ser identificado a nivel de especie. Además, se realizó una anotación funcional general donde se visualizó la presencia/ausencia de 178 rutas metabólicas.

### 1- Sesgos y limitaciones de las técnicas metagenómicas utilizadas en éste estudio

En cuanto al procesamiento inicial de las muestras que nos llevaron a la obtención de los MAGs, podemos observar que ciertos metagenomas, particularmente los MG1 y MG14 perdieron gran cantidad de lecturas (**Tabla 2**). El haber perdido lecturas podría ser resultado de múltiples factores que van desde la recolección de muestras, la extracción de ADN y preparación de librerías. Los protocolos de recolección y conservación de muestras pueden afectar tanto la calidad como la precisión de los datos metagenómicos (Quince et al., 2017), el muestreo debe incluir la mayor cantidad de individuos posibles (Ochoa-Sánchez et al., 2023b) y siempre se debe tener cuidado para evitar la contaminación de otras fuentes, en especial de parte del ADN del hospedero, en este caso el pingüino, donde se perdieron gran parte de las lecturas.

La secuenciación en éste estudio fue de lecturas cortas, por lo que esto también podría ser un sesgo al momento de ensamblar; ya que el proceso de ensamblaje de lecturas cortas para completar los genes, sigue siendo un desafío debido a que los genes diana son universales y contienen regiones muy conservadas (Nam et al., 2023). La calidad de los ensamblajes del genoma depende de la tecnología de secuenciación utilizada y de los objetivos para los que se generó la secuencia (Marcelino et al., 2020); en el futuro utilizar lecturas largas podría ser una opción más viable que elimine ésta limitación (Breitwieser et al., 2019; Singh, 2013) si es que se vuelve menos costosa.

Debido a los niveles de contaminación y fraccionamiento estimado del genoma, se descartaron gran cantidad de los bins obtenidos. A pesar de ocasionar una gran disminución en los genomas que podríamos clasificar y por lo tanto, de la información obtenida para la comprensión de la diversidad microbiana en las plumas del pingüino, es necesario este filtrado para aminorar falsos resultados y especulaciones sobre éstos. Lo que éstos resultados nos indican acerca de nuestras muestras es que la mayor parte de los genomas resultaron poco contaminados, no obstante se encontraron en su mayoría incompletos.

El software utilizado en este trabajo (GTDB-tk) utiliza la base de datos GTDB (Genome Taxonomy Database), la cual proporciona una clasificación estandarizada y completa de genomas de bacterias y arqueas. Sin embargo, los organismos procariontes que actualmente se encuentran secuenciados no representan de manera completa la diversidad existente, además las secuencias se encuentran sesgadas hacía organismos de relevancia médica o biotecnológica, así que existe la necesidad de incluir organismos no cultivados y de otros ambientes en estudios taxonómicos (Coenye et al., 2004; Quince et al., 2017). Desafíos adicionales surgen por las miles de secuencias genómicas en "borrador", entre las cuales puede que estén fragmentadas e incompletas (Breitwieser et al., 2019). Aún así, la taxonomía microbiana está cambiando rápidamente, con múltiples especies siendo renombradas y agrupadas en diferentes clados (Breitwieser et al., 2019), todo esto puede ser una causa de sesgo hacía la clasificación que se obtuvo.

La mayor parte de las herramientas computacionales metagenómicas dependen en cierta medida de los genomas disponibles (Quince et al., 2017); por esto cuando no existe un pariente cercano de una especie en las base de datos, lo cual sucede comúnmente con muestras de nichos inexplorados, como en el caso de las plumas de pingüinos; el ensamblaje y binning de las lecturas pueden ser de gran utilidad para analizarlas (Breitwieser et al., 2019). Aunque todos los MAGs de éste estudio fueron razonablemente bien clasificados, existe la desventaja de que el ensamblaje y binning solo funciona para organismos con cobertura suficiente, por lo que con éste estudio solo conocemos una pequeña fracción de los genomas presentes, probablemente los más abundantes.

## 2- Presencia de los clados taxonómicos hallados en otros estudios y nuevas especies encontradas

En relación con los taxones encontrados en los 16 MAGs, éste estudio reveló que todos los MAGs mostraron similitud con familias bacterianas clasificadas, como son *Weeksellaceae*, *Moraxellaceae*, *Burkholderiaceae\_C*, *Dermatophilaceae*, *DSM-6294*, *Propionibacteriaceae*, *Staphylococcaceae* y *Amphibacillaceae*. Entre las cuáles 9 MAGs (56.25%) resultaron pertenecer a *Moraxellaceae*, de las cuales solo 2 de éstos lograron la clasificación en el género *Psychrobacter*.

En éste estudio dos MAGs se clasificaron en el filo *Bacillota* (MG1-1 y MG3-4), un MAG (MG6-4) en *Bacteroidetes* y 2 MAGs (MG3-1 y MG17-2) en *Actinobacterias*. La mayoría de los MAGs (68.75%) se clasificaron en la clase *Gammaproteobacteria* y 2 MAGs (MG17-3 y MG13-4) dentro del género *Psychrobacter*. Ésto es congruente con los estudios en suelos ornitogénicos y guano de pingüino, donde se encontró que los Firmicutes (sinónimo de Bacillota) son el filo dominante, seguido de Acidobacteria, Actinobacter y Bacteroidetes (Doytchinov et al., 2022). De igual forma, los géneros *Psychrobacter* (Doytchinov et al., 2022) y *Rhodanobacter* (perteneciente a la clase Gammaproteobacteria) (Ramírez-Fernández et al., 2021) son dominantes. Además, uno de lo MAGs (MG6-4) resultó ser clasificado con el orden de Flavobacteriales, la presencia de éste orden parece congruente dado que ha sido encontrado en suelos (Collins et al., 2012; Wang, P. et al., 2021), agua (Chen et al., 2009), ambientes extremos (Szabó et al., 2017) y en nieve antártica (Lopatina et al., 2016).

Con respecto a los géneros encontrados, la mayor parte de éstos han sido hallados en ambientes marinos, suelos antárticos o en contacto con animales (Bernardet et al., 2015; Cavicchioli, 2007; Nemegehaire et al., 2014; Prauser et al., 1997; Schaal et al., 1980; Verma et al, 2016; Wang, J. et al., 2023; Yang, 2014). Sin embargo, los resultados de la clasificación taxonómica indican que todos los MAGs encontrados, a excepción del MAG clasificado como *Mammaliococcus sciuri* no existen en las bases de datos actuales; es decir, son nuevas especies.



*Mammaliicoccus sciuri* es una bacteria Gram-positiva que anteriormente pertenecía al género *Staphylococcus* (Kloos et al., 1976). Esta especie resulta de interés debido a su amplia distribución en suelos, agua y aire, así como en el exterior y la mucosa de mamíferos (Kloos et al., 1976; Nemeghaire et al., 2014). Además, posee un papel importante en la resistencia a antibióticos (Nemeghaire et al., 2014), debido a la presencia de genes como *mecA*, el cual codifica una proteína de unión a la penicilina (De Moura et al., 2023). Si bien no es reconocida como una bacteria patógena, puede causar infecciones oportunistas (Nemeghaire et al., 2014).

### 3- Abundancia de la familia *Moraxellaceae*

En este trabajo se obtuvieron 9 MAGs (56.25%) de la familia *Moraxellaceae*, provenientes de distintos metagenomas (MG6, MG7, MG13, MG14, MG16 y MG17) y de 4 de las 5 islas muestreadas (Tuckers 1, Tuckers 2, Rupert y Monmouth). Este resultado es congruente con el trabajo realizado por Ochoa-Sánchez et al. (2023a), donde descubrieron mediante metagenómica de amplicones del 16S que ésta familia es la más abundante en plumas y patas de pingüino rey y de Magallanes. *Moraxellaceae* pertenece al filo *Proteobacteria* (o *Pseudomonadota*), la clase *Gammaproteobacteria*, el orden *Pseudomonadales* y es miembro de la superfamilia II (Rossau et al., 1991; Yang, 2014), la familia es encontrada en gran diversidad de ambientes, desde suelo, agua y animales (Teixeira & Merquior, 2014; Yang, 2014) y las especies dentro de ésta realizan principalmente un metabolismo aerobio (Teixeira y Merquior, 2014).

Con respecto a lo mostrado en los árboles filogenéticos, podemos observar la agrupación de seis MAGs de la familia discutida, sin clasificación en género. Acorde con lo mencionado en el artículo de Thompson et al. (2013), las especies del mismo género formarán grupos monofiléticos en análisis de superárbol, lo que sugiere que estos MAGs podrían ser parte de un nuevo género desconocido de *Moraxellaceae*, característico del plumaje del pingüino de Magallanes. Sin embargo, al analizar el porcentaje de identidad promedio de nucleótidos (ANI) entre estos seis MAGs, se obtienen valores de más del 99%, lo que indica que son la misma especie, pues está establecido que bacterias de la misma especie tendrán por lo menos un valor de 95% para ésta métrica (Arahal, 2014).

Los MAGs resultantes de éste trabajo parecen contribuir al descubrimiento de más especies, lo que nos proporciona una mejor comprensión del estado filogenético de la familia. Podemos decir que años después de que se estableciera la familia, gracias a la metagenómica, conocemos más especies dentro de ésta, e incluso a la más abundante en las plumas del pingüino de Magallanes.

#### 4- Las capacidades metabólicas de los MAGs ensamblados

Así como se pueden complementar los estudios metagenómicos con otros enfoques ómicos, otra clase de estudios que pueden complementar el análisis de éstos datos son los estudios funcionales, para tener una visión más integrada de la ecología microbiana de la región que se estudia (Cavicchioli, 2007). Con base en la anotación funcional generada en éste estudio, los MAGs recuperados de las plumas del pingüino de Magallanes tienen un comportamiento generalista, pues cuentan con múltiples rutas metabólicas, que les permitiría poder desarrollarse en el ambiente extremo de las plumas y poder alimentarse de la mayor parte de compuestos que pueda haber en su entorno. De acuerdo con Mohsin et al., (2022), investigar los roles funcionales de los taxones bacterianos podrían ayudar a dilucidar sus contribuciones a la salud y enfermedad de las aves, estudios futuros podrían utilizar los taxones identificados en los MAGs de éste trabajo.

En lo que respecta a las rutas que se evaluaron en éste estudio, encontramos que en todos los MAGs estuvieron genes de la glucólisis, por el contrario, la gluconogénesis se encontró incompleta o ausente, lo que nos indica que utilizan la glucosa como fuente de energía, pero la obtienen del medio. Por otra parte, éstas bacterias optan por guardar reservas de energía, las cuales podrían ser las rutas de 3-hidroxipropionato, polihidroxibutirato, almidón y glucógeno (Hiramitsu & Doi, 1993; Singh & Parmar, 2011; Zhu et al., 2021) que estuvieron en gran parte de los MAGs, aunque de éstas últimas dos, su degradación no se encontró en todos. Sin embargo, encontramos que ciertos MAGs cuentan con la glucoamilasa, alfa-amilasa, beta-glucosidasa, pululanasa y oligogalacturónido liasa, éstas enzimas son capaces de romper azúcares complejos en azúcares simples (Burns, 1991; Hii et al., 2012; MacGregor, 1988; Mohanram, 2015; Sauer et al., 2000).

El ciclo del ácido tricarbónico (TCA), genes anapleróticos, múltiples enzimas necesarias para la cadena respiratoria y la ruta Entner-Doudoroff, la cual se refiere a una ruta secundaria del catabolismo de la glucosa bajo condiciones aerobias (Conway, 1992), se encontraron de manera muy incompleta o ausente en todos los MAGs. Además, la ruta Wood-Ljungdahl de fijación del carbono en organismos anaerobios (Ragsdale & Pierce, 2008), se encontró de manera incompleta, pero presente en todos. Mientras que una alternativa al ciclo de Krebs cuando las células se encuentran en estrés oxidativo, la derivación de glioxilato (Dolan & Welch, 2018; Kornberg, 1958), estuvo presente en 12 MAGs. Cabe añadir que la fijación del nitrato y la ruta DNRA, importantes para la respiración anaerobia (Pandey et al., 2020) se encontraron presentes en 15 MAGs; asimismo estuvieron múltiples rutas que indican fermentación, un proceso anaerobio (Tortora et al., 2007), pues estuvo presente la formación de lactato, acetato, así como la formación y la oxidación de etanol, al igual que la formación de formiato a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>. Todo esto sugiere que estos organismos son principalmente anaerobios.

Un solo MAG con la clasificación taxonómica de familia *Burkholderiaceae* y género *Paenalcaligenes* resultó tener completa las rutas del Ciclo de Calvin-Benson y la enzima RuBisCo, las cuales se relacionan con la fotosíntesis (Jablonsky et al., 2011), lo que podría indicarnos que éste es un organismo fotosintético, aunque ningún MAG presenta los fotosistemas. No obstante, la ruta reversa del ciclo del ácido tricarbónico (rTCA), se conoce por ser candidata como el primer metabolismo autótrofo (Becerra et al., 2014) y estuvo presente en 11 de los MAGs; de igual forma en 8 MAGs, se encontró la biosíntesis de sulfolípidos, los cuáles están implicados en el transporte de electrones en la fotosíntesis (Benning et al., 2008). De igual forma, se encontró completa en 4 MAGs la biosíntesis de retinal, ruta característica de las bacterias púrpura, las cuales utilizan luz como fuente de energía (Sumper et al., 1976).

En lo que al ciclo del nitrógeno se refiere, encontramos que éstas bacterias son potencialmente capaces de realizar algunos de los pasos necesarios como la reducción de nitrito, reducción de óxido nítrico y en parte la fijación de nitrógeno. Sin embargo, no pueden realizar todos los pasos, como en el caso de la oxidación de amoníaco, ausente en todos los MAGs.

Entre otras rutas de elementos distintos al carbono, la reducción de arsénico se encuentra presente en todos los MAGs, lo que convertiría a estas bacterias potencialmente reductoras de arsenato (Anderson & Cook, 2004). Asimismo, se encontraron completas en todos los MAGs rutas características de organismos sulfuroreductores, es decir aquellos organismos que son capaces de metabolizar el azufre, este metabolismo se encuentra en microorganismos anaerobios (Castro et al., 2000), confirmando el supuesto anterior. Aunque cabe mencionar que otras rutas parte del ciclo, como la desproporción del azufre, se encuentran ausentes.

Un tema de interés actualmente es la metanogénesis; es decir, la producción de metano en un proceso anaerobio (Lyu et al., 2018). Ésta ruta se ha dado a conocer principalmente en arqueas y existen múltiples vías para la realización de dicho proceso (Lyu et al., 2018). En este estudio, encontramos que la mayoría de las vías estuvieron ausentes o incompletas en los MAGs, a excepción de la metanogénesis vía dimetilsulfido, metanetiolo, metilpropanato que se encontró presente en seis MAGs, asimismo, la metanogénesis vía trimetilamina se encontró presente en uno. Además, la ruta de la serina se encontró casi completa en todos los MAG, ésta es usada por bacterias metanotróficas (Hanson & Hanson, 1996); es decir bacterias que utilizan el metano como fuente de carbono. Sin embargo, enzimas características de éste proceso como la metanol deshidrogenasa, la coenzima M y la coenzima B estuvieron ausentes o incompletas en todos.

Una característica reconocida en el dominio bacteriano son las biopelículas; para las cuales es necesario el ácido colánico (Hanna et al., 2003), que se encontró en 8 MAGs y la proteína A de biopelículas en dos MAGs. Sin embargo, los genes para la síntesis de la proteína PGA se encontraron ausentes o muy incompletos en todos los MAGs, lo mismo ocurrió con el regulador de biopelículas BssS, los genes de la síntesis de fimbrias curli y la capacidad de adhesión. Ésto podría indicarnos que no son capaces de formar biopelículas (Zardus et al., 2008), lo cual podría ser desventajoso, pues no podrían adherirse a las plumas del hospedero.

En lo que se refiere a la capacidad de un organismo de alterar sus componentes genéticos por medio de tomar ADN del exterior; es decir, la capacidad de transformación (Johnston et al., 2014), se encontró casi completa la ruta en 8 MAGs

y algo incompleta en el resto, aunque los factores de competencia se encontraron algo incompletos. Teleológicamente, suena razonable pensar en que las bacterias optan por ésta alternativa, para poder seguir adaptándose rápidamente al ambiente extremo de las plumas.

Un proceso vital para adaptarse a un ambiente extremo, es la interacción que realizan con su hospedero. Observamos en los MAGs diversos sistemas de secreción, como el sistema I, II, Sec, la proteína SRP y Tat que permiten el transporte de proteínas y otros compuestos al exterior (Cabañas-Romero & Huerta-Saquero, 2015). El sistema de secreción tipo I transporta proteínas desde el citoplasma al medio extracelular (Green & Mecsas, 2016), el sistema tipo II es dependiente de las proteínas Sec o Tat y transporta proteínas desde el periplasma hacia el medio extracelular (Green & Mecsas, 2016), el sistema tipo VI puede utilizarse como defensa o ataque tanto a células eucariontes o bacterianas (Green & Mecsas, 2016). Estos datos parecen indicar que podría existir una “conversación” molecular entre el microbioma y las plumas de los pingüinos de Magallanes.

Otra capacidad de adaptación que se encontró en éstas bacterias, es la quimiotaxis, que es la migración de células hacia químicos que los atraen o el alejamiento de algún químico dañino (Bright & Bulgheresi, 2010) aunque parece que estas bacterias no se mueven mediante flagelos. La quimiotaxis una estrategia que puede servir para resistir las defensas inmunes del hospedero (Bright & Bulgheresi, 2010), lo que podría ayudar a combatir los efectos antimicrobianos de las secreciones de la glándula uropigial. El Complejo C-P liasa y genes relacionados que se evaluaron aquí, están implicados en la degradación de fosfonatos, comúnmente se encuentran en bacterias del suelo y ambientes marinos (Stosiek et al., 2019), por lo que sería congruente encontrarlos en los MAGs. No obstante, este no es el caso, indicando que posiblemente, las bacterias habitando las plumas no provienen del ambiente, sino más bien son pertenecientes al microbioma particular de las plumas.

En lo que respecta a la biosíntesis de vitaminas, encontramos que todos los MAGs son potencialmente capaces de sintetizar la tiamina o vitamina B1, la mayoría potencialmente producen riboflavina o vitamina B2, pero pocos son los que podrían sintetizar cobalamina o vitamina B12. Éstas vitaminas son esenciales para sintetizar

ADN y ARN (Roth et al., 1996), además de que son precursores de varias coenzimas. Al no ser producidos por las bacterias en éste caso, se denominarían factores de crecimiento (Caycedo Lozano et al., 2021); así como ciertos aminoácidos para la síntesis de proteínas, para los cuales en éste caso particular, la histidina estuvo completamente ausente en todos los MAGs, la glutamina únicamente se encontró en dos de los MAGs y la valina se encontró muy incompleta en la mayor parte, al igual que la leucina y la isoleucina.

#### 5- Bacterias actuando como simbioses de las plumas

Un número amplio de estudios acerca de la simbiosis han sido publicados recientemente (Kamagata & Narihiro, 2016), donde el concepto más popular de éste término consiste en “la convivencia de organismos diferentes, independientemente de los efectos de la interacción ” (Bright & Bulgheresi, 2010). No obstante, éste concepto ha sido muy poco estudiado en organismos que habitan un ambiente aislado cerca de los polos (Abirami et al., 2023). Además de que los tipos de simbiosis que se conocen son principalmente entre aquellos microorganismos viviendo dentro de un macroorganismo (endosimbiosis bacteriana), los cuáles influyen en la evolución de la vida (Abirami et al., 2023); pero de igual manera podrían hacerlo aquellos que habitan sobre otro organismo (ectosimbiosis). Ésta última asociación podría influir de manera fundamental en los ciclos biogeoquímicos del planeta, incluso aún más que los microorganismos sin asociación a un hospedero (Beinart, 2019).

Estas asociaciones le pueden proporcionar beneficios a los microorganismos, pero de igual forma pueden hacerlo con el hospedero. De hecho, se han descrito observaciones acerca de las adaptaciones que puede desarrollar un hospedero para seleccionar qué simbioses son los que habitarán en él, proveyéndoles espacio y evitando la colonización de sus competidores (Beinart, 2019; Bright & Bulgheresi 2010; Jacob et al., 2018). Los resultados de éste estudio sugieren que las comunidades microbianas de las plumas del pingüino de Magallanes pueden estar en parte influidas por la adquisición de microorganismos ambientales; aunque igualmente cuentan con un microbioma característico de la propia especie, siendo

éste en gran parte compuesto por especies de la familia *Moraxellaceae*. Ésto último es congruente con lo concluido en el estudio de Ochóa-Sánchez et al., (2023a).

De manera similar, en un estudio que caracterizó mediante secuenciación del 16S la microbiota intestinal de pingüinos papúa (*Pygoscelis papua*), macarrones (*Eudyptes chrysolophus*), rey (*Aptenodytes patagonicus*) y pingüino pequeño (*Eudyptula minor*) se encontró a la familia *Moraxellaceae* entre las predominantes en todas las especies (Abirami et al., 2023), lo que sugiere que éste clado está asociado con las especies de pingüino. Futuras investigaciones podrían comprobar la veracidad de ésto.

## 6- Implicaciones y aplicaciones

El contar con nuevas secuencias completas de estas bacterias que al parecer no han sido descritas, mejorará la comprensión de cómo es que se distribuyen las familias y funciones de las proteínas, harán más fácil los análisis de procesos evolutivos como transferencia lateral de genes y permitirán construir árboles filogenéticos más precisos, según lo mencionado por Kim y Steinegger, (2023). Además, el conocer la taxonomía de éstos microbios puede permitir el descubrimiento de sus asociaciones entre sí, para determinar terapias probióticas para enfermedades (Wajid et al., 2021) o condiciones ambientales a las que se exponen los pingüinos.

Una estrategia útil para aprovechar los resultados obtenidos sería la integración de datos de otros enfoques “ómicos”, como es la metatranscriptómica, que captura y obtiene la secuenciación del ARN en una muestra (Bashiardes et al., 2016). Ésta integración puede generar conocimientos que no se observan solo con los datos del genoma, pues podríamos ver qué genes son los que se transcriben activamente, y es que otro sesgo de la secuenciación de genoma es que no es capaz de distinguir entre los microbios que se encuentran vivos o muertos, observando el transcriptoma podríamos ser capaces de distinguirlo (Breitwieser et al., 2019; Quince et al., 2017). Asimismo, la metaproteómica o la meta-metabolómica podrían ayudarnos a comprender aún más el rendimiento de las proteínas y metabolitos que están en acción (Herold et al., 2020). Sin embargo, aún no está del todo claro cómo integrar

todos los datos meta-ómicos dentro de un marco común (Cocolin et al., 2018), pero en un futuro quizá se tenga una mejor comprensión.

Algo que recomiendan Quince et al., (2017) respecto a estudios de metagenómica, es incorporar estudios longitudinales de muestras del mismo hábitat a lo largo del tiempo, en lugar de estudios transversales, los cuáles son comunes en este campo. De manera semejante, Cassin-Sackett et al., (2019) mencionan que ésta clase de estudios longitudinales ayudarían a buscar firmas de selección que correspondan a cambios fenotípicos relacionados con el clima, de igual forma Levy et al. (2020) mencionan que ésta clase de estudios ayudarían a detectar posibles agentes causantes de enfermedades y potenciar los esfuerzos de conservación. Ésto me parece un enfoque que podría realizarse en el futuro con las plumas del pingüino de Magallanes, pues al comparar los datos obtenidos en éste trabajo con datos de estudios futuros, podríamos encontrar diferencias temporales que nos ayuden a monitorear como van cambiando las comunidades microbianas en el Estrecho de Magallanes.

El conocimiento generado por la metagenómica puede ser utilizado para desarrollar estrategias de conservación del medioambiente y su biodiversidad al comprender mejor la ecología microbiana (Cavicchioli, 2007). Estudios posteriores podrían investigar cómo es que el microbioma afecta la capacidad de los pingüinos a responder al entorno cambiante como menciona Bahrndorff et al. (2016); y es que nosotros tenemos la responsabilidad de no solo proteger la biodiversidad, sino también de conservar lo que existe actualmente para las generaciones futuras (Boersma & Rebstock, 2014).

La abundancia de las secuencias de una especie, en éste caso de la familia *Moraxellaceae*, podrían indicar el número relativo de individuos que viven en la zona o la abundancia relativa de microorganismos benéficos o neutrales en comparación con especies patógenos (Cassin-Sackett et al., 2019). Además, es importante que los estudios futuros consideren incorporar datos ambientales (Ramírez-Fernández et al., 2021). Por ejemplo, en el estudio realizado por Swan et al. (2013), utilizaron metagenomas para identificar correlaciones entre parámetros ambientales y la abundancia de genomas específicos. Asimismo, sería de utilidad incluir la química y



propiedades físicas de las plumas, así como del suelo de las madrigueras, y es que hay evidencia de que algunos elementos químicos pueden acumularse de manera diferente a lo largo de las plumas de pingüinos (Celis et al., 2023), así como tener participación en el biotransporte de éstos elementos (Celis et al., 2023), por lo que también sería buena idea tener en cuenta éstos hallazgos.

Otro aspecto que podría ser estudiado, y que de hecho es parte del proyecto general, es la relación entre el genoma del hospedero, la transcriptómica y la metagenómica. Con esto se mapearán los genes sobreexpresados tanto en el hospedero como en el microbioma. Estos datos son solo parte de la línea base; la idea es que el proyecto pueda continuar varios años más comparando las variables ambientales con los cambios en el holobionte en 9 especies de Magallanes. Teniendo en cuenta esto, incluir otro tipo de animales silvestres en la evaluación de la influencia del entorno del microbioma de los pingüinos, también podría servir para identificación de biomarcadores de la salud del hospedero y el ecosistema (Graciette et al., 2023).

En lo que respecta al punto anterior sobre la salud del hospedero, la colonización microbiana juega un papel directo en ésta (Engel et al., 2016; Kelly, et al., 2007). Por lo que es indispensable conocer y comprender las comunidades microbianas que habitan en el hospedero para detectar vulnerabilidades en la población, como por ejemplo enfermedades (Rohrer et al., 2023). Para ejemplificar el uso que se le podría dar a las secuencias obtenidas en éste trabajo, al ensamblar las muestras metagenómicas se puede conocer el viroma. Múltiples autores recalcan la importancia de realizar más estudios metagenómicos sobre la diversidad viral, su dinámica, evolución y su impacto en especies silvestres, no únicamente en pingüinos (Hayer et al., 2021; Levy et al., 2020; Wang, W. et al., 2019).

Aún quedan muchos vacíos del conocimiento que llenar, carecemos de información sobre la función de todos los genes en los taxones del árbol de la vida (Cassin-Sackett et al., 2019), comprensión total sobre cómo es que las poblaciones reaccionan y se adaptan al clima, la pérdida de hábitat y otros factores estresantes causados o no por actividades antropogénicas, como el cambio climático (Cassin-

Sackett et al., 2019), información acerca de las correlaciones entre la abundancia de genomas particulares y parámetros ambientales como temperatura.

Entre las capacidades funcionales que se podrían estudiar con ayuda de éstos MAGs está la caracterización del resistoma, definido como la totalidad de los genes que codifican la resistencia a los antimicrobianos (RAM) en una muestra determinada (Rubiola et al., 2022). A pesar de que la caracterización del resistoma por medio de MAGs requiere de mucho tiempo, potencial computacional y gran cobertura del genoma, permite una detección más precisa de secuencias codificantes válidas de ADN y una mejor exploración del contexto genómico de alrededor (Rubiola et al., 2022). En particular, se ha demostrado por medio de MAGs que la familia *Moraxellaceae* actúa como reservorio importante de genes RAM en la leche cruda (Rubiola et al., 2022), quizá los MAGs clasificados dentro de la misma familia en éste estudio tengan resultados consistentes con éste hallazgo.

Resultaría interesante adentrarse aún más en el perfil funcional de éstos microorganismos, debido a que las bacterias de zonas frías y expuestas a radiación ultravioleta son candidatas ideales para el aislamiento de pigmentos que actúan como protectores solares extracelulares o para su uso como pigmentos biodegradables naturales y colorantes (Doytchinov et al., 2022). Además, otro análisis interesante sería conocer cómo se relaciona el perfil funcional de éstos MAGs con parámetros ambientales como oxígeno, temperatura, elementos presentes en las plumas, ya que se ha visto que la capacidad funcional de muestras metagenómicas marinas se ve relacionada con algunos parámetros ambientales específicos (Bik, 2014). Integrar el conocimiento de la diversidad y función de las comunidades bacterianas con parámetros ambientales, con el tiempo permitirá identificar las causas y efectos de los cambios en el ecosistema (Cavicchioli, 2015).

Otras preguntas importantes a mi percepción y a la de los autores Burley et al., (2022) son ¿qué causa la variación individual del hospedero en la composición de especies del microbioma? y ¿cómo la composición afecta la condición, la supervivencia y el éxito reproductivo de las aves?. Además, entender cómo afecta la magnitud de la carga microbiana de las plumas a éstas variables. Todas éstas preguntas podrían ser exploradas con ayuda de los datos de qué especies habitan en las plumas y qué genes tienen. Ahora que contamos con la información de referencia sobre la composición bacteriana asociada a las plumas de pingüino, deberíamos poder reconocer qué especies están asociadas a la microbiota natural del pingüino y ayudarnos a dilucidar el potencial funcional de éstos perfiles taxonómicos.

## CONCLUSIONES

En este estudio se buscó ensamblar, asignar la taxonomía y realizar una anotación funcional de genomas ensamblados a partir de metagenomas (MAGs) secuenciados de muestras del plumaje de pingüinos de Magallanes. Se obtuvieron 16 MAGs de buena calidad y su clasificación taxonómica completa hasta el nivel de familia para todos, a nivel de género únicamente 9 MAGs (56.25%) tuvieron clasificación y solo un MAG (6.25%) logró ser identificado a nivel de especie. Además, se obtuvo una anotación funcional de la presencia/ausencia de 178 rutas metabólicas para cada MAG.

Se recuperaron 16 MAGs que pertenecen al dominio *Bacteria*, principalmente al filo *Pseudomonadota* y diversas familias, pero principalmente *Moraxellaceae*. Además, pocos MAGs lograron obtener clasificación a nivel de género y a partir de su anotación funcional podríamos mencionar que cuentan con una gran diversidad de metabolismos, pero no cuentan con algunos genes esenciales como son los aminoácidos de histidina y glutamina. Los resultados de la presencia de genes que indican una relación huésped-hospedero sugieren que las bacterias habitando las plumas no provienen del ambiente, sino más bien son pertenecientes al microbioma particular de las plumas.

Futuros estudios podrían utilizar estos MAGs en diversos campos como son la conservación del pingüino de Magallanes, descubrimiento de patógenos, ecología microbiana, el descubrimiento de biodiversidad, la comprensión de la asociación entre hospedero y sus microorganismos y muchos otros campos que están por venir.

## REFERENCIAS

- Abirami, B., Radhakrishnan, M., & Bhaskar, P. V. (2023). Microbial symbionts in polar animals. *Microbial Symbionts*, 573-583. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99334-0.00017-7>
- Alberdi, A., Martin Bideguren, G., & Aizpurua, O. (2021). Diversity and compositional changes in the gut microbiota of wild and captive vertebrates: A meta-analysis. *Scientific Reports*, 11(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02015-6>
- Anderson, C. R., & Cook, G. M. (2004). Isolation and Characterization of Arsenate-Reducing Bacteria from Arsenic-Contaminated Sites in New Zealand. *Current Microbiology*, 48(5), 341-347. <https://doi.org/10.1007/s00284-003-4205-3>
- Andrews, S. (2010). FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data [Online]. Available online at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- Arahal, D. R. (2014). Whole-Genome Analyses: Average Nucleotide Identity. *Methods in Microbiology*, 41, 103-122. <https://doi.org/10.1016/bs.mim.2014.07.002>
- Aramaki, T., Blanc-Mathieu, R., Endo, H., Ohkubo, K., Kanehisa, M., Goto, S., & Ogata, H. (2019). KofamKOALA: KEGG Ortholog assignment based on profile HMM and adaptive score threshold. *Bioinformatics*, 36(7), 2251-2252. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz859>
- Arntz, W. (1999). Magellan-Antarctic: Ecosystems that drifted apart. Summary Review. *Scientia Marina*, 63(S1), 503-511. <https://doi.org/10.3989/scimar.1999.63s1503>
- Babraham Bioinformatics. (s. f.). Per base sequence content <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/Help/3%20Analysis%20Modules/4%20Per%20Base%20Sequence%20Content.html>
- Bahrndorff, S., Alemu, T., Alemneh, T., & Nielsen, J. L. (2016). The Microbiome of Animals: Implications for Conservation Biology. *International Journal Of Genomics*, 2016, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2016/5304028>

- Barbosa, A., & Palacios, M. J. (2009). Health of Antarctic birds: a review of their parasites, pathogens and diseases. *Polar Biology*, 32(8). <https://doi.org/10.1007/s00300-009-0640-3>
- Bashiardes, S., Zilberman-Schapira, G., & Elinav, E. (2016). Use of Metatranscriptomics in Microbiome Research. *Bioinformatics and Biology Insights*. <https://doi.org/10.4137/BBI.S34610>
- Becerra, A., Rivas, M., García-Ferris, C., Lazcano, A., & Peretó, J. (2014). A phylogenetic approach to the early evolution of autotrophy: the case of the reverse TCA and the reductive acetyl-CoA pathways. *PubMed*, 17(2), 91-97. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.211>
- Beedanagari, S., & John, K. (2014). Next Generation Sequencing. *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*, 501-503. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00678-3>
- Beinart, R. A. (2019). The significance of microbial symbionts in ecosystem processes. *MSystems*, 4(3). <https://doi.org/10.1128/msystems.00127-19>
- Benning, C., Garavito, R. M., & Shimojima, M. (2008). Sulfolipid biosynthesis and function in plants. In *Sulfur metabolism in phototrophic organisms* (pp. 185-200). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M. C. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., Mitter, B., ... Schloter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- Bermanec, V., Fiket, Ž., Hrenović, J., Kazazić, S., Kniewald, G., Venter, C., & Botha, A. (2019). Geochemical and microbiological characterization of sediments at the mouth of Río de las Minas (Punta Arenas, Chile). *Anales del Instituto de la Patagonia*, 47(3), 49-61. <https://doi.org/10.4067/s0718-686x2019000300049>
- Bernardet, J., Hugo, C. J., & Bruun, B. (2015). Chryseobacterium. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-35. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00301>
- Bik, H. M. (2014). Deciphering diversity and ecological function from marine metagenomes. *The Biological Bulletin*. <https://doi.org/10.1086/bblv227n2p107>

- Bingham, M., & Jiménez-Mejías, E. (1999). Penguins of the Magellan region. *Scientia Marina*, 63(S1), 485-493. <https://doi.org/10.3989/scimar.1999.63s1485>
- Bodawatta, K. H., S. K. Schierbech, N. R. Petersen, K. Sam, N. Bos, K. A. Jønsson, and M. Poulsen (2020). Great Tit (*Parus major*) uropygial gland microbiomes and their potential defensive roles. *Frontiers in Microbiology* 11:e1735.
- Boersma, P. D. (2008). Penguins as Marine Sentinels. *BioScience*, 58(7), 597-607. <https://doi.org/10.1641/B580707>
- Boersma, P. D., & Rebstock, G. A. (2014). Climate Change Increases Reproductive Failure in Magellanic Penguins. *PLOS ONE*, 9(1), e85602. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085602>
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. *Bioinformatics*, btu170.
- Bolhuis, H., & Cretoiu, M. S. (2016). What is so Special About Marine Microorganisms? Introduction to the Marine Microbiome—From Diversity to Biotechnological Potential. En *Springer eBooks* (pp. 3-20). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-33000-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-33000-6_1)
- Bonnedahl, J., Broman, T., Waldenström, J., Palmgren, H., Niskanen, T., & Olsén, B. (2005). In Search of Human-associated Bacterial Pathogens in Antarctic Wildlife: Report from Six Penguin Colonies Regularly Visited by Tourists. *AMBIO: A Journal Of The Human Environment*, 34(6), 430-432. <https://doi.org/10.1579/0044-7447-34.6.430>
- Bordenstein, S. R., & Theis, K. R. (2015). Host Biology in Light of the Microbiome: Ten Principles of Holobionts and Hologenomes. *PLoS Biology*, 13(8), e1002226. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002226>
- Bottos, E.M., Scarrow, J.W., Archer, S.D.J., McDonald, I.R., Cary, S.C. (2014). Bacterial Community Structures of Antarctic Soils. In: Cowan, D. (eds) *Antarctic Terrestrial Microbiology*. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-45213-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-45213-0_2)
- Breitwieser, F. P., Lu, J., & Salzberg, S. L. (2019). A review of methods and databases for metagenomic classification and assembly. *Briefings in Bioinformatics*, 20(4), 1125-1136. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx120>

- Bright, M., & Bulgheresi, S. (2010). A complex journey: Transmission of microbial symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 8(3), 218-230. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2262>
- Burley, N. T., Azevedo Campos, F., Chien, E., Duarte, S., Kirshman, N., Phan, A. T., & Wilson, K. M. (2022). Experimentally reduced feather microbial loads improve reproductive performance in captive Zebra Finches. *Ornithology*, 139(3). <https://doi.org/10.1093/ornithology/ukac021>
- Burns, J. K. (1991). The polygalacturonases and lyases. *The chemistry and technology of pectin*, 165-188.
- Cabañas-Romero, P. V., & Huerta-Saquero, A. (2015). Nanomáquinas biológicas: los sistemas de secreción bacterianos. *Mundo Nano*, 7(13). <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2014.13.48705>
- Cao, J., Hu, Y., Liu, F., Wang, Y., Bi, Y., Lv, N., Li, J., Zhu, B., & Gao, G. F. (2020). Metagenomic analysis reveals the microbiome and resistome in migratory birds. *Microbiome*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0781-8>
- Cardona, L., Drago, M., & Gazo, M. (2022). Viral metagenomics reveals persistent as well as dietary acquired viruses in Antarctic fur seals. *Scientific Reports*, 12(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-23114-y>
- Cassin-Sackett, L., Welch, A.J., Venkatraman, M.X., Callicrate, T.E., Fleischer, R.C. (2019). The Contribution of Genomics to Bird Conservation. In: Kraus, R. (eds) *Avian Genomics in Ecology and Evolution*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-16477-5\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-16477-5_10)
- Castro, H. F., Williams, N. H., & Ogram, A. (2000). Phylogeny of sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 31(1), 1-9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2000.tb00665.x>
- Cavicchioli, R. (2007). Antarctic metagenomics. *Microbiology Australia*, 28(3), 98. <https://doi.org/10.1071/ma07098>
- Cavicchioli, R. (2015). Microbial ecology of Antarctic aquatic systems. *Nature Reviews Microbiology*, 13(11), 691-706. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3549>
- Caycedo Lozano, L., Corrales Ramírez, L., y Trujillo Suárez, D. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento : una mirada desde la química. *NOVA*, 19(36). Recuperado a partir de <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/1770>



- Celis, J. E., Squadrone, S., Berti, G., Abete, M. C., Sandoval, M., & Espejo, W. (2023). Burden of rare earth elements and trace elements in feathers of magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) from the southern Chilean Patagonia. *Marine Pollution Bulletin*, 194, 115364. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115364>
- Chaumeil, P., Mussig, A. J., Hugenholtz, P., & Parks, D. H. (2019). GTDB-Tk: a toolkit to classify genomes with the Genome Taxonomy Database. *Bioinformatics*, 36(6), 1925-1927. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz848>
- Chen, L., Anantharaman, K., Shaiber, A., Eren, A. M., & Banfield, J. F. (2020). Accurate and complete genomes from metagenomes. *Genome Research*, 30(3), 315-333. <https://doi.org/10.1101/gr.258640.119>
- Chen, L., Xu, H., Fu, S., Fan, H., Zhou, Y., & Liu, Z. (2009). *Lishizhenia tianjinensis* sp. nov., isolated from coastal seawater. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 59(10), 2400-2403. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.008524-0>
- Cocolin, L., Mataragas, M., Bourdichon, F., Doulgeraki, A., Pilet, M., Jagadeesan, B., Rantsiou, K., & Phister, T. (2018). Next generation microbiological risk assessment meta-omics: The next need for integration. *International Journal of Food Microbiology*, 287, 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.008>
- Coenye, T., Gevers, D., Van de Peer, Y., Vandamme, P., & Swings, J. (2005). Towards a prokaryotic genomic taxonomy. *Fems Microbiology Reviews*, 29(2), 147-167. <https://doi.org/10.1016/j.fmrre.2004.11.004>
- Collins, D., Luxton, T., Kumar, N., Shah, S., Walker, V. K., & Shah, V. (2012). Assessing the Impact of Copper and Zinc Oxide Nanoparticles on Soil: A Field Study. *PLOS ONE*, 7(8), e42663. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042663>
- Contreras-Moreira, B., & Vinuesa, P. (2013). GET\_HOMOLOGUES, a Versatile Software Package for Scalable and Robust Microbial Pangenome Analysis. *Applied And Environmental Microbiology*, 79(24), 7696-7701. <https://doi.org/10.1128/aem.02411-13>

- Conway, T. (1992). The Entner-Doudoroff pathway: History, physiology and molecular biology. *FEMS Microbiology Reviews*, 9(1), 1-27. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb05822.x>
- Cumplido, M., D'Amico, V., Bertellotti, M., Atencio, M., Dinsmore, S., & Palacios, M. (2023). Integrative assessment of immunity, health-state, growth and survival of Magellanic penguin chicks in a colony exposed to ecotourism. *Science of The Total Environment*, 870, 161915. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161915>
- Czipri, N. I. (2022). The feather microbiome in bluethroats (*Luscinia svecica*) (Master's thesis).
- D'amico, V. L., & Bertellotti, M. (2019). Physiological toolkit to assess the health impacts on a Magellanic Penguin *Spheniscus magellanicus* colony located in a high-use touristic region of Patagonia, Argentina. *Marine Ornithology*, 47, 247-251. <https://notablesdelaciencia.conicet.gov.ar/handle/11336/118911>
- Danecek, P., Bonfield, J. K., Liddle, J., Marshall, J., Ohan, V., Pollard, M., Whitwham, A., Keane, T. M., McCarthy, S., Davies, R. M., & Li, H. (2021). Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience*, 10(2). <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab008>
- Dawson, C., Vincent, J. F., Jeronimidis, G., Rice, G., & Forshaw, P. (1999). Heat Transfer through Penguin Feathers. *Journal of Theoretical Biology*, 199(3), 291-295. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1999.0959>
- Del Mar Labrador, M., Doña, J., Serrano, D., & Jovani, R. (2020). Quantitative Interspecific Approach to the Stylosphere: Patterns of Bacteria and Fungi Abundance on Passerine Bird Feathers. *Microbial Ecology*, 81(4), 1088-1097. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01634-2>
- De Moura, G. S., De Carvalho, E., Sanchez, E. M. R., Sellera, F. P., Marques, M. F., Heinemann, M. B., De Vlieghe, S., Souza, F. N., & Mota, R. A. (2023). Emergence of livestock-associated *Mammaliicoccus sciuri* ST71 co-harboring *mecA* and *mecC* genes in Brazil. *Veterinary Microbiology*, 283, 109792. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2023.109792>
- Dewar, M. L., Y. Arnould, J. P., Allnutt, T. R., Crowley, T., Krause, L., Reynolds, J., Dann, P., & Smith, S. C. (2017). Microbiota of little penguins and short-tailed shearwaters during development. *PLOS ONE*, 12(8), e0183117. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183117>

- Dodino, S., Riccialdelli, L., Polito, M. J., Pütz, K., Brasso, R. L., & Raya Rey, A. (2022). Mercury exposure driven by geographic and trophic factors in Magellanic penguins from Tierra del Fuego. *Marine Pollution Bulletin*, 174, 113184. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113184>
- Dolan, S. K., & Welch, M. (2018). The glyoxylate shunt, 60 years on. *Annual Review Of Microbiology*, 72(1), 309-330. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090817-062257>
- Doytchinov, V. V., & Dimov, S. G. (2022). Microbial Community Composition of the Antarctic Ecosystems: Review of the Bacteria, Fungi, and Archaea Identified through an NGS-Based Metagenomics Approach. *Life*, 12(6), 916. <https://doi.org/10.3390/life12060916>
- Emms, D., & Kelly, S. (2019). OrthoFinder: phylogenetic orthology inference for comparative genomics. *Genome Biology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1832-y>
- Engel, P., Kwong, W. K., McFrederick, Q., Anderson, K. E., Barribeau, S. M., Chandler, J. A., Cornman, R. S., Dainat, J., De Miranda, J. R., Doublet, V., Emery, O., Evans, J. D., Farinelli, L., Flenniken, M. L., Granberg, F., Grasis, J. A., Gauthier, L., Hayer, J., Koch, H., . . . Dainat, B. (2016). The Bee Microbiome: Impact on Bee Health and Model for Evolution and Ecology of Host-Microbe Interactions. *MBio*, 7(2). <https://doi.org/10.1128/mbio.02164-15>
- Espejo, W., Celis, J.E., González-Acuña, D., Banegas, A., Barra, R., Chiang, G. (2017). A Global Overview of Exposure Levels and Biological Effects of Trace Elements in Penguins. In: de Voogt, P. (eds) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 245*. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, vol 245. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/398\\_2017\\_5](https://doi.org/10.1007/398_2017_5)
- Fagade, O. E., Ogunjobi, A. A., Abiala, M. A., & Falodun, O. I. (2023). Fate and transport of microorganisms in the air. En *Elsevier eBooks* (pp. 39-58). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-96122-6.00006-2>
- Frias, J. E., Gil, M. N., Esteves, J. L., García Borboroglu, P., Kane, O. J., Smith, J. R., & Boersma, P. D. (2012). Mercury levels in feathers of Magellanic penguins. *Marine Pollution Bulletin*, 64(6), 1265-1269. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.02.024>

- Gallo Vaulet, L., Vanstreels, R. E., Gallo, L., Entrocassi, A. C., Peker, L., Blanco, G. S., Rago, M. V., Rodriguez Fermepin, M., & Uhart, M. M. (2022). Chlamydiaceae-Like Bacterium in Wild Magellanic Penguins (*Spheniscus magellanicus*). *Diversity*, 14(9), 746. <https://doi.org/10.3390/d14090746>
- Graciette, A. G., Hoopes, L. A., Clauss, T., Stewart, F. J., & Pratte, Z. A. (2023). The microbiome of African penguins (*Spheniscus demersus*) under managed care resembles that of wild marine mammals and birds. *Scientific Reports*, 13(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43899-w>
- Graham, E. D., Heidelberg, J. F., & Tully, B. J. (2018). Potential for primary productivity in a globally-distributed bacterial phototroph. *The ISME Journal*, 12(7), 1861-1866. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0091-3>
- Green, E. R., & Mecsas, J. (2016). Bacterial Secretion Systems: an Overview. In ASM Press eBooks (pp. 213-239). <https://doi.org/10.1128/9781555819286.ch8>
- Grzesiak, J., Kaczyńska, A., Gawor, J., Żuchniewicz, K., Aleksandrak-Piekarczyk, T., Gromadka, R., & Zdanowski, M. K. (2020). A smelly business: Microbiology of Adélie penguin guano (Point Thomas rookery, Antarctica). *Science of The Total Environment*, 714, 136714. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136714>
- Grzymiski, J. J., Riesenfeld, C. S., Williams, T. J., Dussaq, A. M., Ducklow, H. W., Erickson, M. A., Cavicchioli, R., & Murray, A. E. (2012). A metagenomic assessment of winter and summer bacterioplankton from Antarctica Peninsula coastal surface waters. *The ISME Journal*, 6(10), 1901-1915. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.31>
- Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N., & Tesler, G. (2013). QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*, 29(8), 1072-1075. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt086>
- Handelsman, J., Rondon, M. R., Brady, S. F., Clardy, J., & Goodman, R. M. (1998). Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chemistry & Biology*, 5(10), R245-R249. [https://doi.org/10.1016/s1074-5521\(98\)90108-9](https://doi.org/10.1016/s1074-5521(98)90108-9)
- Hanna, A., Berg, M., Stout, V., & Razatos, A. (2003). Role of Capsular Colanic Acid in Adhesion of Uropathogenic *Escherichia coli*. *Applied And*

- Environmental Microbiology, 69(8), 4474-4481.  
<https://doi.org/10.1128/aem.69.8.4474-4481.2003>
- Hanson, R. S., & Hanson, T. E. (1996). Methanotrophic bacteria. *Microbiological Reviews*, 60(2), 439-471. <https://doi.org/10.1128/mr.60.2.439-471.1996>
- Hayer, J., Wille, M., Font, A., González-Aravena, M., Norder, H., & Malmberg, M. (2021). Four novel picornaviruses detected in Magellanic Penguins (*Spheniscus magellanicus*) in Chile. *Virology*, 560, 116-123. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2021.05.010>
- Herold, M., Martínez Arbas, S., Narayanasamy, S., Sheik, A. R., K., L. A., Lebrun, L. A., Kunath, B. J., Roume, H., Bessarab, I., Williams, R. B., Gillece, J. D., Schupp, J. M., Keim, P. S., Jäger, C., Hoopmann, M. R., Moritz, R. L., Ye, Y., Li, S., Tang, H., . . . Wilmes, P. (2020). Integration of time-series meta-omics data reveals how microbial ecosystems respond to disturbance. *Nature Communications*, 11(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19006-2>
- Hii, S. L., Tan, J. S., Ling, T. C., & Ariff, A. B. (2012). Pullulanase: Role in Starch Hydrolysis and Potential Industrial Applications. *Enzyme Research*, 2012, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2012/921362>
- Hiramitsu, M., & Doi, Y. (1993). Microbial synthesis and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxypropionate). *Polymer*, 34(22), 4782-4786. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(93\)90719-Q](https://doi.org/10.1016/0032-3861(93)90719-Q)
- Hollocher, H. (2024). Speciation, Theories of. *Encyclopedia of Biodiversity (Third Edition)*, 609-621. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822562-2.00365-0>
- holobionts and hologenomes. *PLOS Biology* 13(8):e1002226 DOI 10.1371/journal.pbio.1002226
- Infante, M. T. (1995). Straits in Latin America: The case of the strait of magellan. *Ocean Development And International Law*, 26(2), 175-187. <https://doi.org/10.1080/00908329509546056>
- International Chicken Genome Sequencing Consortium.(2004). Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature*, 432(7018), 695-716. <https://doi.org/10.1038/nature03154>
- Jablonsky, J., Bauwe, H., & Wolkenhauer, O. (2011). Modeling the Calvin-Benson cycle. *BMC Systems Biology*, 5(1), 185. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-5-185>

- Jacob, S., Sallé, L., Zinger, L., Chaine, A. S., Ducamp, C., Boutault, L., Russell, A. F., & Heeb, P. (2018). Chemical regulation of body feather microbiota in a wild bird. *Molecular Ecology*, 27(7), 1727-1738. <https://doi.org/10.1111/mec.14551>
- Jain, C., M., L., Phillippy, A. M., Konstantinidis, K. T., & Aluru, S. (2018). High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. *Nature Communications*, 9(1), 1-8. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07641-9>
- Jarvis, E. D., Mirarab, S., Aberer, A. J., Li, B., Houde, P., Li, C., Ho, S. y. W., Faircloth, B. C., Nabholz, B., Howard, J. T., Suh, A., Weber, C., Da Fonseca, R. R., Li, J., Zhang, F. Z., Li, H., Zhang, L., Narula, N., Liu, L., . . . Zhang, G. (2014). Whole-genome analyses resolve early branches in the tree of life of modern birds. *Science*, 346(6215), 1320-1331. <https://doi.org/10.1126/science.1253451>
- Johnston, C., Martin, B., Fichant, G., Polard, P., & Claverys, J. (2014). Bacterial transformation: Distribution, shared mechanisms and divergent control. *Nature Reviews Microbiology*, 12(3), 181-196. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3199>
- Kamagata, Y., & Narihiro, T. (2016). Symbiosis studies in Microbial ecology. *Microbes and Environments*, 31(3), 201-203. <https://doi.org/10.1264/jsme2.me3103rh>
- Kane, O. J., Smith, J. R., Boersma, P. D., Parsons, N. J., Strauss, V., Garcia-Borboroglu, P., & Villanueva, C. (2010). Feather-loss Disorder in African and Magellanic Penguins on JSTOR. *Waterbirds: The International Journal of Waterbird Biology*, 415. <https://doi.org/40891056>
- Kane, O. J., Uhart, M., Rago, V., Pereda, A., Smith, J. R., Van Buren, A., Clark, J. A., & Boersma, P. D. (2012). Avian Pox in Magellanic Penguins (*Spheniscus magellanicus*). *Journal Of Wildlife Diseases*, 48(3), 790-794. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-48.3.790>
- Kang, D., Li, F., Kirton, E., Thomas, A., Egan, R., An, H., & Zhong, W. (2019). MetaBAT 2: an adaptive binning algorithm for robust and efficient genome reconstruction from metagenome assemblies. *PeerJ*, 7, e7359. <https://doi.org/10.7717/peerj.7359>

- Kehrig, H. A., Hauser-Davis, R. A., Seixas, T. G., & Fillmann, G. (2015). Trace-elements, methylmercury and metallothionein levels in Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*) found stranded on the Southern Brazilian coast. *Marine Pollution Bulletin*, 96(1-2), 450-455. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.05.006>
- Kelly, D., King, T., & Aminov, R. (2007). Importance of microbial colonization of the gut in early life to the development of immunity. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 622(1-2), 58-69. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.03.011>
- Kim, J., & Steinegger, M. (2023). Metabuli: sensitive and specific metagenomic classification via joint analysis of amino-acid and DNA. *bioRxiv* (Cold Spring Harbor Laboratory). <https://doi.org/10.1101/2023.05.31.543018>
- Kloos, W. E., Schleifer, K. H., & Smith, R. F. (1976). Characterization of *Staphylococcus sciuri* sp.nov. and Its Subspecies. *International Journal Of Systematic Bacteriology*, 26(1), 22-37. <https://doi.org/10.1099/00207713-26-1-22>
- Kornberg, H. L. (1958). The metabolism of C<sub>2</sub> compounds in micro-organisms. 1. The incorporation of [2-<sup>14</sup>C] acetate by *Pseudomonas fluorescens*, and by a *Corynebacterium*, grown on ammonium acetate. *Biochemical Journal*, 68(3), 535.
- Kraus, R.H.S. (2019). An Introduction to “Avian Genomics in Ecology and Evolution: From the Lab into the Wild”. In: Kraus, R. (eds) *Avian Genomics in Ecology and Evolution*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-16477-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-16477-5_1)
- Lan, R., & Reeves, P. R. (2000). Intraspecies variation in bacterial genomes: the need for a species genome concept. *Trends In Microbiology*, 8(9), 396-401. [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(00\)01791-1](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(00)01791-1)
- Langmead, B. & Salzberg, S. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat Methods* 9, 357–359 (2012). <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
- Leclaire, S., Strandh, M., Dell’Ariccia, G., Gabirot, M., Westerdahl, H., & Bonadonna, F. (2019). Plumage microbiota covaries with the major histocompatibility complex in blue petrels. *Molecular Ecology*, 28(4), 833-846. <https://doi.org/10.1111/mec.14993>

- Lee, W. Y., Cho, H., Kim, M., Tripathi, B. M., Jung, W., Chung, H., & Kim, H. (2019). Faecal microbiota changes associated with the moult fast in chinstrap and gentoo penguins. *PLOS ONE*, 14(5), e0216565. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216565>
- Letunić, I., & Bork, P. (2021). Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W293-W296. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab301>
- Levy, H., Fontenele, R. S., Harding, C., Suazo, C., Kraberger, S., Schmidlin, K., Djurhuus, A., Black, C., Hart, T., Smith, A. L., & Varsani, A. (2020). Identification and Distribution of Novel Cressdnaviruses and Circular Molecules in Four Penguin Species in South Georgia and the Antarctic Peninsula. *Viruses*, 12(9), 1029. <https://doi.org/10.3390/v12091029>
- Li, D., Liu, C., Luo, R., Sadakane, K., & Lam, T. W. (2015). MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics*, 31(10), 1674-1676. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv033>
- Li, F., Yang, S., Zhang, L., Qiao, L., Wang, L., He, S., Li, J., Yang, N., Yue, B., & Zhou, C. (2022). Comparative metagenomics analysis reveals how the diet shapes the gut microbiota in several small mammals. *Ecology and Evolution*, 12(1), e8470. <https://doi.org/10.1002/ece3.8470>
- Lopatina, A., Medvedeva, S., Shmakov, S., Logacheva, M. D., Krylenkov, V., & Severinov, K. (2016). Metagenomic Analysis of Bacterial Communities of Antarctic Surface Snow. *Frontiers in Microbiology*, 7, 179402. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00398>
- Lyu, Z., Shao, N., Akinyemi, T., & Whitman, W. B. (2018). Methanogenesis. *CB/Current Biology*, 28(13), R727-R732. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.05.021>
- MacGregor, E. A. (1988).  $\alpha$ -Amylase structure and activity. *Journal Of Protein Chemistry*, 7(4), 399-415. <https://doi.org/10.1007/bf01024888>
- MacroGen (Consultado 10 de junio 2024) <https://www.macrogen.com/en/main>
- Mallawaarachchi, V., & Lin, Y. (2022a). MetaCOAG: Binning metagenomic contigs via composition, coverage and assembly graphs. En *Lecture Notes in Computer Science* (pp. 70-85). [https://doi.org/10.1007/978-3-031-04749-7\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-031-04749-7_5)



- Mallawaarachchi, V., & Lin, Y. (2022b). Accurate binning of metagenomic contigs using composition, coverage, and assembly graphs. *Journal of Computational Biology*, 29(12), 1357-1376. <https://doi.org/10.1089/cmb.2022.0262>
- Marcelino, V. R., Clausen, P. T. L. C., Buchmann, J. P., Wille, M., Iredell, J. R., Meyer, W., Lund, O., Sorrell, T. C., & Holmes, E. C. (2020). CCMetagen: comprehensive and accurate identification of eukaryotes and prokaryotes in metagenomic data. *Genome Biology*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02014-2>
- Marques, F. P., Cardoso, L. G., Haimovici, M., & Bugoni, L. (2018). Trophic ecology of Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) during the non-breeding period. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 210, 109-122. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.06.001>
- Metcheva, R., Yurukova, L., Teodorova, S., & Nikolova, E. (2006). The penguin feathers as bioindicator of Antarctica environmental state. *Science of The Total Environment*, 362(1-3), 259-265. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.05.008>
- Mohanram, V. R. S. (2015). Beta-Glucosidase: Key Enzyme in Determining Efficiency of Cellulase and Biomass Hydrolysis. *Journal Of Bioprocessing & Biotechniques*, 05(01). <https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000197>
- Mohsin Bukhari, S., Ahmed Alghamdi, H., Ur Rehman, K., Andleeb, S., Ahmad, S., & Khalid, N. (2022). Metagenomics analysis of the fecal microbiota in Ring-necked pheasants (*Phasianus colchicus*) and Green pheasants (*Phasianus versicolor*) using next generation sequencing. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(3), 1781-1788. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.10.050>
- Mootapally, C. S., Poriya, P., Nathani, N. M., Maran, B. A. V., & Gadhvi, I. R. (2017). Recent Advances in the Metagenomics of Marine Mammals Microbiome. En *Springer eBooks* (pp. 327-336). [https://doi.org/10.1007/978-981-10-5050-3\\_18](https://doi.org/10.1007/978-981-10-5050-3_18)
- Moreno-Pino, M., Krock, B., De la Iglesia, R., Echenique-Subiabre, I., Pizarro, G., Vásquez, M., & Trefault, N. (2018). Next Generation Sequencing and mass spectrometry reveal high taxonomic diversity and complex phytoplankton-phycotoxins patterns in Southeastern Pacific fjords. *Toxicon*, 151, 5-14. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.06.078>

- Muñoz-Leal, S., Clemes, Y. S., Lopes, M. G., Acosta, I. C., Serpa, M. C. A., Mayorga, L. F. S., Gennari, S. M., González-Acuña, D., & Labruna, M. B. (2019). Novel Ehrlichia sp. Detected in Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) and in the seabird tick *Ixodes uriae* from Magdalena Island, southern Chile. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 10(6), 101256. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.06.015>
- Nam, N. N., Khoa, H. D., Trinh, K. L., & Lee, N. Y. (2023). Metagenomics: An Effective Approach for Exploring Microbial Diversity and Functions. *Foods*, 12(11), 2140. <https://doi.org/10.3390/foods12112140>
- National Institutes of Health (NIH). (s. f.). National Institutes Of Health (NIH). <https://www.nih.gov/>
- Nemeghaire, S., Argudín, M. A., Feßler, A. T., Hauschild, T., Schwarz, S., & Butaye, P. (2014). The ecological importance of the *Staphylococcus sciuri* species group as a reservoir for resistance and virulence genes. *Veterinary Microbiology*, 171(3-4), 342-356. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.005>
- Nextera XT DNA Library Prep Kit | Sequence small genomes, plasmids, cDNA. (s. f.) <http://www.uusmb.unam.mx/assets/BibADN2.pdf>
- Niemeyer, C., Favero, C. M., Kolesnikovas, C. K. M., Bhering, R. C. C., Brandão, P. E., & Catão-Dias, J. L. (2013). Two different avipoxviruses associated with pox disease in Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) along the Brazilian coast. *Avian Pathology*, 42(6), 546-551. <https://doi.org/10.1080/03079457.2013.849794>
- Nurk, S., Meleshko, D., Korobeynikov, A., & Pevzner, P. A. (2017). metaSPAdes: a new versatile metagenomic assembler. *Genome Research*, 27(5), 824-834. <https://doi.org/10.1101/gr.213959.116>
- Ochoa-Sánchez M, Acuña Gomez EP, Moreno L, Moraga CA, Gaete K, Eguiarte LE, Souza V. (2023a). Body site microbiota of Magellanic and king penguins inhabiting the Strait of Magellan follow species-specific patterns. *PeerJ* 11:e16290 <https://doi.org/10.7717/peerj.16290>
- Ochoa-Sánchez, M., Gómez, E. P. A., Ramírez-Fenández, L., Eguiarte, L. E., & Souza, V. (2023b). Current knowledge of the Southern Hemisphere marine microbiome in eukaryotic hosts and the Strait of Magellan Surface Microbiome Project. *PeerJ*, 11, e15978. <https://doi.org/10.7717/peerj.15978>

- Osório, L. G., Xavier, M. O., Ladeira, S. R. L., Silva Filho, R. P., Faria, R. O., Vargas, G. D., Cabana, A. L., Mello, J. R. B., & Meireles, M. C. A.. (2013). Study of bacteria isolated from the foot pad of *Spheniscus magellanicus* with and without bumblefoot. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária E Zootecnia*, 65(1), 47–54. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000100008>
- Pandey, C., Kumar, U., Kaviraj, M., Minick, K., Mishra, A., & Singh, J. (2020). DNRA: A short-circuit in biological N-cycling to conserve nitrogen in terrestrial ecosystems. *Science of The Total Environment*, 738, 139710. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139710>
- Parks, D. H., Imelfort, M., Skennerton, C. T., Hugenholtz, P., & Tyson, G. W. (2015). CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome Research*, 25(7), 1043-1055. <https://doi.org/10.1101/gr.186072.114>
- Peixoto, R. S., Harkins, D. M., & Nelson, K. E. (2021). Advances in Microbiome Research for Animal Health. *Annual Review Of Animal Biosciences*, 9(1), 289-311. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-091020-075907>
- Potti, J., Moreno, J., Yorio, P., Briones, V., García-Borboroglu, P., Villar, S., & Ballesteros, C. (2002). Bacteria divert resources from growth for magellanic penguin chicks. *Ecology Letters*, 5(6), 709-714. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2002.00375.x>
- Prauser, H., Schümann, P., Rainey, F. A., Kroppenstedt, R. M., & Stackebrandt, E. (1997). *Terracoccus luteus* gen. nov., Sp. nov., an LL-Diaminopimelic Acid-Containing Coccoid actinomycete from soil. *International journal of systematic bacteriology*, 47(4), 1218-1224. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-4-1218>
- Prichula, J., Van Tyne, D., Schwartzman, J., Sant'Anna, F. H., Pereira, R. I., Da Cunha, G. R., Tavares, M., Lebreton, F., Frazzon, J., d'Azevedo, P. A., Seixas, A., Frazzon, A. P. G., & Gilmore, M. S. (2020). Enterococci from wild magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) as an indicator of marine ecosystem health and human impact. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(19). <https://doi.org/10.1128/aem.01662-20>
- Quadri-Adrogué, A., Gómez-Ramírez, P., García-Fernández, A. J., García, G. O., Seco-Pon, J. P., & Miglioranza, K. S. B. (2021). Feather mercury levels in beached Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*) in northern Argentina

- during the non-breeding season. *Environmental Science And Pollution Research*, 29(17), 24793-24801. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17539-7>
- Quince, C., Walker, A. W., Simpson, J. T., Loman, N. J., & Segata, N. (2017). Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nature Biotechnology*, 35(9), 833-844. <https://doi.org/10.1038/nbt.3935>
- Quintana, F., Gómez-Laich, A., Gunner, R., Gabelli, F. M., 'Omo, G. D., Duarte, C. M., Brogger, M. I., & Wilson, R. P. (2022). Long walk home: Magellanic penguins have strategies that lead them to areas where they can navigate most efficiently. *Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences*, 289(1977). <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.0535>
- Ragsdale, S. W., & Pierce, E. (2008). Acetogenesis and the Wood–Ljungdahl pathway of CO<sub>2</sub> fixation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1784(12), 1873-1898. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2008.08.012>
- Ramírez-Fernández, L., Orellana, L. H., Johnston, E. R., Konstantinidis, K. T., & Orlando, J. (2021). Diversity of microbial communities and genes involved in nitrous oxide emissions in Antarctic soils impacted by marine animals as revealed by metagenomics and 100 metagenome-assembled genomes. *Science of The Total Environment*, 788, 147693. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147693>
- Rasmussen, J. A., & Chua, P. Y. S. (2023). Genome-resolving metagenomics reveals wild western capercaillies (*Tetrao urogallus*) as avian hosts for antibiotic-resistance bacteria and their interactions with the gut-virome community. *Microbiological Research*, 271, 127372. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127372>
- Recabarren-Villalón, T., Ronda, A. C., La Sala, L., Sanhueza, C., Díaz, L., Rodríguez Pirani, L. S., Picone, A. L., Romano, R. M., Petracchi, P., & Arias, A. H. (2023). First assessment of debris pollution in the gastrointestinal content of juvenile Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) stranded on the west south Atlantic coasts. *Marine Pollution Bulletin*, 188, 114628. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114628>
- Rehner, J., Schmartz, G. P., Groeger, L., Dastbaz, J., Ludwig, N., Hannig, M., Rupf, S., Seitz, B., Flockerzi, E., Berger, T., Reichert, M. C., Krawczyk, M., Meese, E., Herr, C., Bals, R., Becker, S. L., Keller, A., & Müller, R. (2022).

- Systematic Cross-biospecimen Evaluation of DNA Extraction Kits for Long- and Short-read Multi-metagenomic Sequencing Studies. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics/Genomics, Proteomics And Bioinformatics*, 20(2), 405-417. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2022.05.006>
- Rohrer, S. D., Parker, P. G., & Chubiz, L. M. (2023). Composition and function of the Galapagos penguin gut microbiome vary with age, location, and a putative bacterial pathogen. *Scientific Reports*, 13(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31826-y>
- Rosenberg, E., & Zilber-Rosenberg, I. (2018). The hologenome concept of evolution after 10 years. *Microbiome*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0457-9>
- Rossau, R., Van Landschoot, A., Gillis, M., & De Ley, J. (1991). Taxonomy of Moraxellaceae Fam. Nov., a new bacterial family to accommodate the genera Moraxella, Acinetobacter, and psychrobacter and related organisms. *International journal of systematic bacteriology*, 41(2), 310-319. <https://doi.org/10.1099/00207713-41-2-310>
- Rosselló-Móra, R., & Amann, R. (2015). Past and future species definitions for Bacteria and Archaea. *Systematic And Applied Microbiology*, 38(4), 209-216. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2015.02.001>
- Roth, J., Lawrence, J., & Bobik, T. (1996). COBALAMIN (COENZYME B12): Synthesis and Biological Significance. *Annual Review Of Microbiology*, 50(1), 137-181. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.50.1.137>
- Rubiola, S., Macori, G., Chiesa, F., Panebianco, F., Moretti, R., Fanning, S., & Civera, T. (2022). Shotgun metagenomic sequencing of bulk tank milk filters reveals the role of Moraxellaceae and Enterobacteriaceae as carriers of antimicrobial resistance genes. *Food Research International*, 158, 111579. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111579>
- Ruiz-Rodríguez, M., E. Valdivia, J. J. Soler, M. Martín-Vivaldi, A. M. Martín-Platero, and M. Martínez-Bueno (2009). Symbiotic bacteria living in the hoopoe's uropygial gland prevent feather degradation. *Journal of Experimental Biology* 212:3621–3626
- Sauer, J., Sigurskjold, B. W., Christensen, U., Frandsen, T. P., Mirgorodskaya, E., Harrison, M., Roepstorff, P., & Svensson, B. (2000). Glucoamylase: Structure/function relationships, and protein engineering. *Biochimica et*

- Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology, 1543(2), 275-293. [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(00\)00232-6](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(00)00232-6)
- Sayers, E. W., Bolton, E., Brister, J. R., Canese, K., Chan, J., Comeau, D. C., Connor, R., Funk, K., Kelly, C., Kim, S., Madej, T., Marchler-Bauer, A., Lanczycki, C. J., Lathrop, S., Lu, Z., Thibaud-Nissen, F., Murphy, T., Phan, L., Skripchenko, Y., . . . Sherry, S. T. (2021). Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Research*, 50(D1), D20-D26. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1112>
- Schaal, K. P., Schofield, G. M., & Pulverer, G. (1980). Taxonomie und klinische Bedeutung von Actinomycetaceae and Propionibacteriaceae. *Infection*, 8(S2), S122-S130. <https://doi.org/10.1007/bf01639868>
- Seeber, P. A., & Epp, L. S. (2022). Environmental DNA and metagenomics of terrestrial mammals as keystone taxa of recent and past ecosystems. *Mammal Review*, 52(4), 538-553. <https://doi.org/10.1111/mam.12302>
- Seemann, T. (2014). Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, 30(14), 2068-2069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>
- Sellera, F. P., Fernandes, M. R., Moura, Q., Souza, T. A., Nascimento, C. L., Cerdeira, L., & Lincopan, N. (2018). Draft genome sequence of an extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate belonging to ST644 isolated from a footpad infection in a Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*). *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 12, 88-89. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.12.009>
- Sellera, F. P., Fernandes, M. R., Sartori, L., Carvalho, M. P., Esposito, F., Nascimento, C. L., Dutra, G. H., Mamizuka, E. M., J., P., McCulloch, J. A., & Lincopan, N. (2017). *Escherichia coli* carrying IncX4 plasmid-mediated mcr-1 and blaCTX-M genes in infected migratory Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(4), 1255-1256. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw543>
- Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. (s. f.). PINGÜINO DE MAGALLANES. [https://www.sernapesca.cl/files/importacion/rescateyconservacion/fichasespecies\\_conservacion/pinguinos/pinguinodemagallanes.pdf](https://www.sernapesca.cl/files/importacion/rescateyconservacion/fichasespecies_conservacion/pinguinos/pinguinodemagallanes.pdf)
- Shaffer, J. P., Carpenter, C. S., Martino, C., Salido, R. A., Minich, J. J., Bryant, M., Sanders, K., Schwartz, T., Humphrey, G., Swafford, A. D., & Knight, R.

- (2022). A comparison of six DNA extraction protocols for 16S, ITS and shotgun metagenomic sequencing of microbial communities. *Biotechniques/BioTechniques*, 73(1), 34-46. <https://doi.org/10.2144/btn-2022-0032>
- Shawkey, M. D., Mills, K. L., Dale, C., & Hill, G. E. (2005). Microbial Diversity of Wild Bird Feathers Revealed through Culture-Based and Culture-Independent Techniques. *Microbial Ecology*, 50(1), 40-47. <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0089-4>
- Simon, J., Marchesi, J. R., Mougel, C., & Selosse, M. (2019). Host-microbiota interactions: from holobiont theory to analysis. *Microbiome*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0619-4>
- Singh, K. M., Shah, T. M., Reddy, B., Deshpande, S., Rank, D. N., & Joshi, C. G. (2013). Taxonomic and gene-centric metagenomics of the fecal microbiome of low and high feed conversion ratio (FCR) broilers. *Journal Of Applied Genetics/Journal Of Applied Genetics*, 55(1), 145-154. <https://doi.org/10.1007/s13353-013-0179-4>
- Singh, P., & Parmar, N. (2011). Isolation and characterization of two novel polyhydroxybutyrate (PHB)-producing bacteria. *African Journal Of Biotechnology*, 10(24), 4907-4919. [https://www.academicjournals.org/article/article1380789910\\_Parmar and Singh.pdf](https://www.academicjournals.org/article/article1380789910_Parmar%20and%20Singh.pdf)
- Soler, J. J., M. Martín-Vivaldi, M. Ruiz-Rodríguez, E. Valdivia, A. M. Martín-Platero, M. Martínez-Bueno, J. M. Peralta-Sánchez, and M. Méndez (2008). Symbiotic association between Hoopoes and antibiotic-producing bacteria that live in their uropygial gland. *Functional Ecology* 22:864–871.
- Song, W., & Thomas, T. (2017). Binning\_refiner: improving genome bins through the combination of different binning programs. *Bioinformatics*, 33(12), 1873-1875. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx086>
- Stosiek, N., Talma, M., & Klimek-Ochab, M. (2019). Carbon-Phosphorus Lyase—the State of the Art. *Applied Biochemistry And Biotechnology*, 190(4), 1525-1552. <https://doi.org/10.1007/s12010-019-03161-4>
- Sui, H., Weil, A. A., Nuwagira, E., Qadri, F., Ryan, E. T., Mezzari, M. P., Phipatanakul, W., & Lai, P. S. (2020). Impact of DNA Extraction Method on Variation in Human and Built Environment Microbial Community and

- Functional Profiles Assessed by Shotgun Metagenomics Sequencing. *Frontiers In Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00953>
- Sumper, M., Reitmeier, H., & Oesterhelt, D. (1976). Biosynthesis of the Purple Membrane of Halobacteria. *Angewandte Chemie*, 15(4), 187-194. <https://doi.org/10.1002/anie.197601871>
- Švec, P., Busse, H., Sedlář, K., Musilová, J., Králová, S., Staňková, E., Šedo, O., Krsek, D., Koublová, V., Křištofová, L., & Sedláček, I. (2023). *Corynebacterium antarcticum* sp. Nov., *Corynebacterium marambiense* sp. Nov., *Corynebacterium meridianum* sp. Nov., and *Corynebacterium pygosceleis* sp. Nov., isolated from Adélie penguins (*Pygoscelis adeliae*). *Systematic and Applied Microbiology*, 46(1), 126390. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2022.126390>
- Swan, B. K., Tupper, B., Sczyrba, A., Lauro, F. M., Martínez-García, M., González, J. M., Luo, H., Wright, J. R., Landry, Z. C., Hanson, N. W., Thompson, B., Poulton, N., Schwientek, P., Acinas, S. G., Giovannoni, S. J., Moran, M. A., Hallam, S. J., Cavicchioli, R., Woyke, T., & Stepanauskas, R. (2013). Prevalent genome streamlining and latitudinal divergence of planktonic bacteria in the surface ocean. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 110(28), 11463-11468. <https://doi.org/10.1073/pnas.1304246110>
- Szabó, A., Korponai, K., Kerepesi, C., Somogyi, B., Vörös, L., Bartha, D., Márialigeti, K., & Felföldi, T. (2017). Soda pans of the Pannonian steppe harbor unique bacterial communities adapted to multiple extreme conditions. *Extremophiles*, 21(3), 639-649. <https://doi.org/10.1007/s00792-017-0932-4>
- Teixeira, L. M., & Merquior, V. L. C. (2014). The family Moraxellaceae. En *Springer eBooks* (pp. 443-476). [https://doi.org/10.1007/978-3-642-38922-1\\_245](https://doi.org/10.1007/978-3-642-38922-1_245)
- Thompson, C. C., Chimetto, L. A., Edwards, R. A., Swings, J., Stackebrandt, E., & Thompson, F. L. (2013). Microbial genomic taxonomy. *BMC Genomics*, 14(1), 913. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-913>
- Thompson, C.C., Chimetto, L., Edwards, R.A. et al. Microbial genomic taxonomy. *BMC Genomics* 14, 913 (2013). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-913>
- Tian J, Du J, Lu Z, Li Y, Li D, Han J, Wang Z, Guan X. (2021). Differences in the fecal microbiota due to the sexual niche segregation of captive gentoo



- penguins *Pygoscelis papua*. *Polar Biology* 44(3):473–482 DOI 10.1007/s00300-021-02812-9.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). *Introducción a la microbiología*. Ed. Médica Panamericana.
- Trathan, P. N., García-Borboroglu, P., Boersma, D., Bost, A., M. Crawford, R. J., Crossin, G. T., Cuthbert, R. J., Dann, P., Davis, L. S., La Puente, S. D., Ellenberg, U., Lynch, H. J., Mattern, T., Pütz, K., Seddon, P. J., Trivelpiece, W., & Wienecke, B. (2014). Pollution, habitat loss, fishing, and climate change as critical threats to penguins. *Conservation Biology*, 29(1), 31-41. <https://doi.org/10.1111/cobi.12349>
- Truchado, D. A., A., D., Cerrada, B., Cea, P., Moens, M. A., Doménech, A., Milá, B., Cadar, D., & Benítez, L. (2020). Comparative Metagenomics of Palearctic and Neotropical Avian Cloacal Viromes Reveal Geographic Bias in Virus Discovery. *Microorganisms*, 8(12), 1869. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121869>
- Tyson, G. W., Chapman, J., Hugenholtz, P., Allen, E. E., Ram, R. J., Richardson, P. M., Solovyev, V. V., Rubin, E. M., Rokhsar, D. S., & Banfield, J. F. (2004). Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment. *Nature*, 428(6978), 37-43. <https://doi.org/10.1038/nature02340>
- Verma, P., Saravanan, N., Jia, B., Jeon, C. O., Dharani, G., Somasundaram, S. T., & Kirubakaran, R. (2016). *Pseudogracilibacillus marinus* sp. nov., isolated from a biofilm formed in coastal seawater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(9), 3443-3448. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001212>
- Vibin, J., Chamings, A., Collier, F., Klaassen, M., Nelson, T. M., & Alexandersen, S. (2018). Metagenomics detection and characterisation of viruses in faecal samples from Australian wild birds. *Scientific Reports*, 8(1), 1-23. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26851-1>
- Vibin, J., Chamings, A., Klaassen, M., & Alexandersen, S. (2020). Metagenomic characterisation of additional and novel avian viruses from Australian wild ducks. *Scientific Reports*, 10(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79413-9>

- Videvall, E. (2017). *What's N50?* The Molecular Ecologist. Consultado 10 junio 2024. <https://www.molecularecologist.com/2017/03/29/whats-n50/>
- Wajid, B., Anwar, F., Wajid, I., Nisar, H., Meraj, S., Zafar, A., Alshawaqfeh, M., Ekti, A. R., Khatoon, A., & Suchodolski, J. S. (2021). Music of metagenomics —a review of its applications, analysis pipeline, and associated tools. *Functional & Integrative Genomics*, 22(1), 3-26. <https://doi.org/10.1007/s10142-021-00810-y>
- Wang, B., & Sullivan, T. N. (2017). A review of terrestrial, aerial and aquatic keratins: The structure and mechanical properties of pangolin scales, feather shafts and baleen plates. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 76, 4-20. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.05.015>
- Wang, J., Zhang, Y., Liu, Y., Xie, Z., Cao, J., Zhang, H., Liu, J., Bao, T., Sun, C., Liu, B., Wei, Y., & Fang, J. (2023). The phylogeny and metabolic potentials of an n-alkane-degrading *Venatorbacter* bacterium isolated from deep-sea sediment of the Mariana Trench. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1108651. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1108651>
- Wang, P., Wang, X., Nie, J., Wang, Y., Zang, H., Peixoto, L., Yang, Y., & Zeng, Z. (2021). Manure Application Increases Soil Bacterial and Fungal Network Complexity and Alters Keystone Taxa. *Journal Of Soil Science And Plant Nutrition*, 22(1), 607-618. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00673-z>
- Wang, S., Yang, Z., Gong, G., Wang, J., Wu, J., Yang, S., & Jiang, L. (2016). Icephobicity of Penguins *Spheniscus Humboldti* and an Artificial Replica of Penguin Feather with Air-Infused Hierarchical Rough Structures. *The Journal Of Physical Chemistry C*, 120(29), 15923-15929. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b12298>
- Wang, W., Zheng, S., Li, L., Yang, Y., Liu, Y., Wang, A., Sharshov, K., & Li, Y. (2019). Comparative metagenomics of the gut microbiota in wild greylag geese (*Anser anser*) and ruddy shelducks (*Tadorna ferruginea*). *MicrobiologyOpen*, 8(5), e00725. <https://doi.org/10.1002/mbo3.725>
- Williams, C. L., Hagelin, J. C., & Kooyman, G. L. (2015). Hidden Keys to Survival: The type, density, pattern and functional role of Emperor Penguin body feathers. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1817), 20152033. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.2033>

- Wu, Y. W., Simmons, B. A., & Singer, S. W. (2015). MaxBin 2.0: an automated binning algorithm to recover genomes from multiple metagenomic datasets. *Bioinformatics*, 32(4), 605-607. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv638>
- Yang, F., Sun, J., Luo, H., Ren, H., Zhou, H., Lin, Y., Han, M., Chen, B., Liao, H., Brix, S., Li, J., Yang, H., Kristiansen, K., & Zhong, H. (2020). Assessment of fecal DNA extraction protocols for metagenomic studies. *Gigascience*, 9(7). <https://doi.org/10.1093/gigascience/giaa071>
- Yang, X. (2014). Moraxellaceae. *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*, 826-833. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00441-9>
- Zardus, J. D., Nedved, B. T., Huang, Y., Tran, C., & Hadfield, M. G. (2008). Microbial Biofilms Facilitate Adhesion in Biofouling Invertebrates. *The Biological Bulletin/Biological Bulletin*, 214(1), 91-98. <https://doi.org/10.2307/25066663>
- Zhang, L., Chen, F., Zeng, Z., Xu, M., Sun, F., Yang, L., Bi, X., Lin, Y., Gao, Y., Hao, H., Yi, W., Li, M., & Xie, Y. (2021). Advances in Metagenomics and Its Application in Environmental Microorganisms. *Frontiers In Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.766364>
- Zhu, Y., Delbianco, M., & Seeberger, P. H. (2021). Automated Assembly of Starch and Glycogen Polysaccharides. *Journal Of The American Chemical Society*, 143(26), 9758-9768. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c02188>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1



Figura 1. Pingüino de Magallanes (Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, SUBPESCA)

Figura 2

a) Mapa de América del Sur



b) Mapa del Estrecho de Magallanes



Figura 2 a) Mapa de América del Sur indicando la localización del Estrecho de Magallanes. b) Mapa del Estrecho de Magallanes indicando las 5 islas muestreadas para este estudio

Figura 3

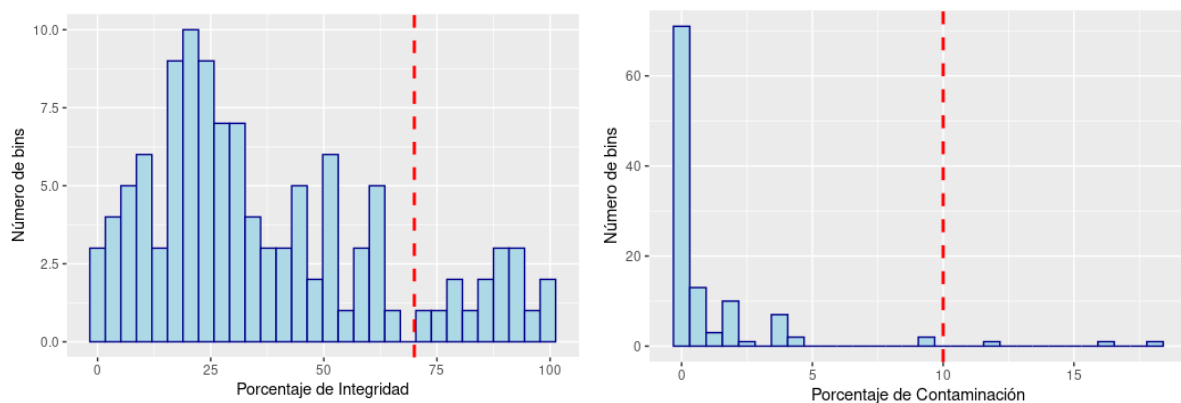


Figura 3. a) Histograma del porcentaje de integridad con el que cuentan los bins recuperados, la línea roja indica el valor de corte para que sean considerados con una buena integridad (>70%). b) Histograma del porcentaje de contaminación con el que cuentan los bins recuperados, la línea roja indica el valor de corte para que sean considerados con poca contaminación (<10%)

Figura 4

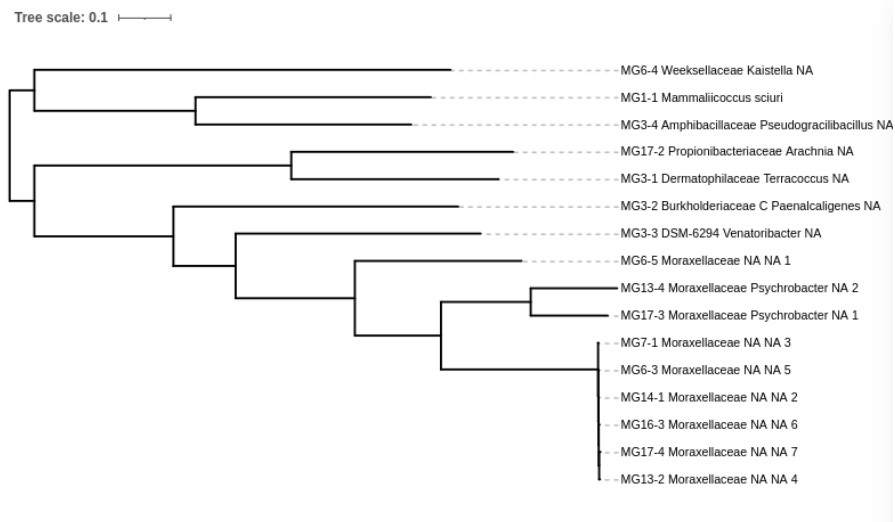


Figura 3. Árbol filogenético de los 16 MAGs resultantes

Figura 5

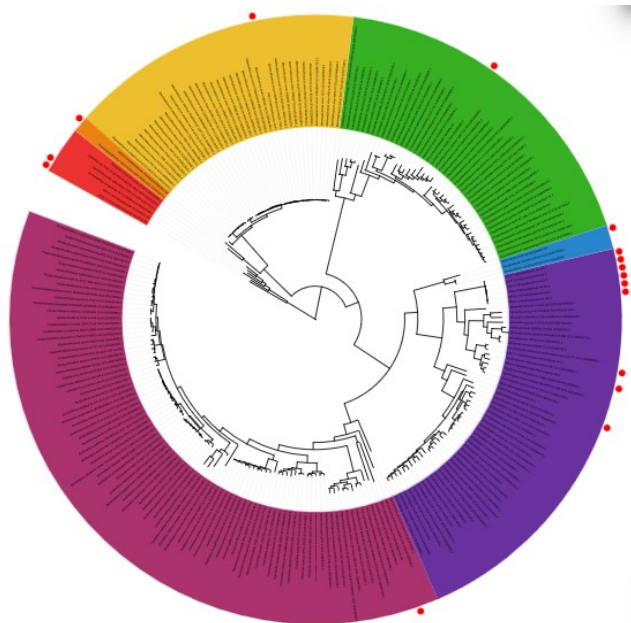


Figura 4. Árbol filogenético de 217 genomas de los clados *Burkholderiaceae* (morado), *Dermatophilaceae* (rojo), *Mammaliicoccus* (amarillo), *Moraxellaceae* (violeta), *Pseudogracilibacillus* (naranja), *Venatoribacter* (azul) y *Weeksellaceae* (verde) junto con los 16 MAGs (señalados con un punto rojo)

Figura 6- Páginas

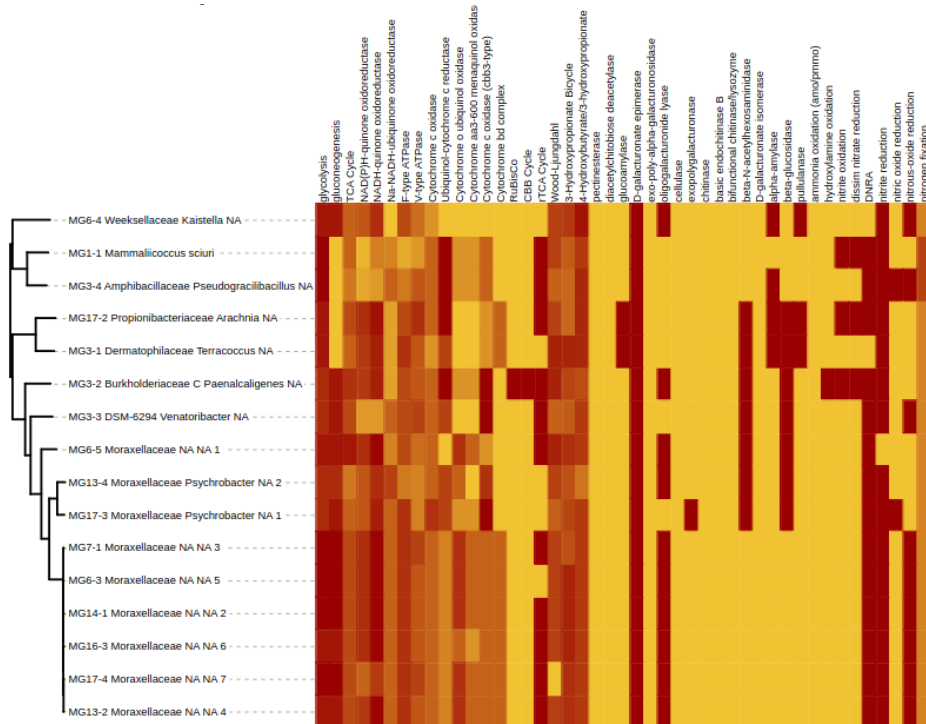


Figura 6. a) Árbol filogenético y mapa de calor de los genes codificantes a rutas metabólicas presentes en los MAGs

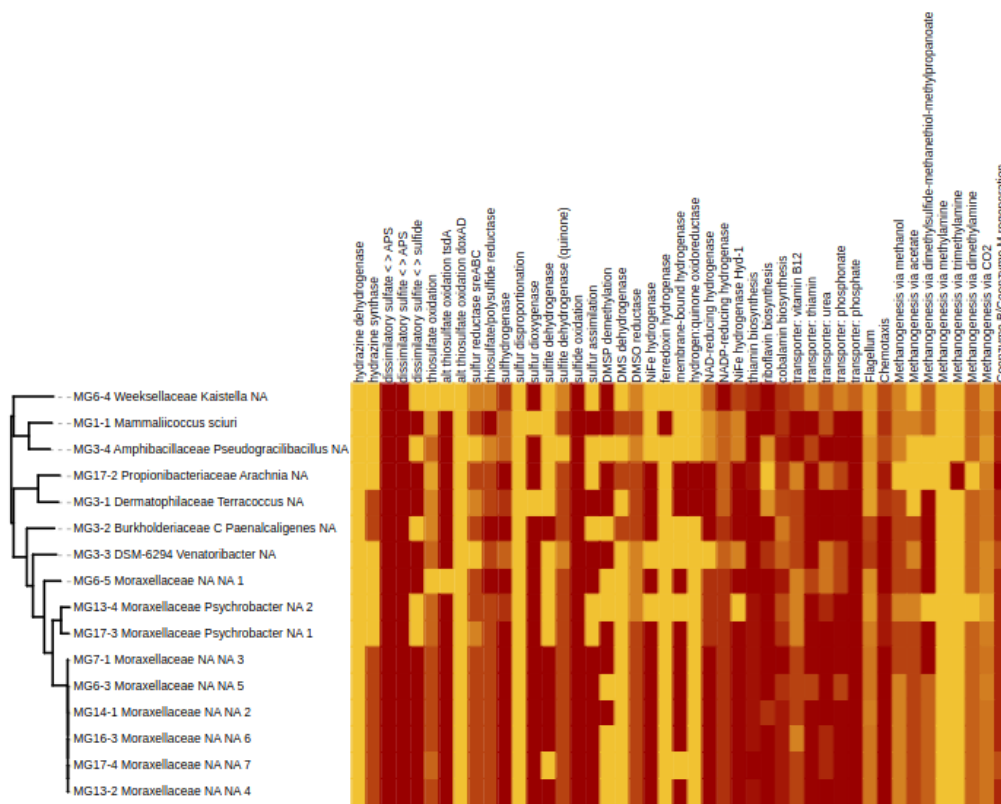


Figura 6. b) Árbol filogenético y mapa de calor de los genes codificantes a rutas metabólicas presentes en los MAGs

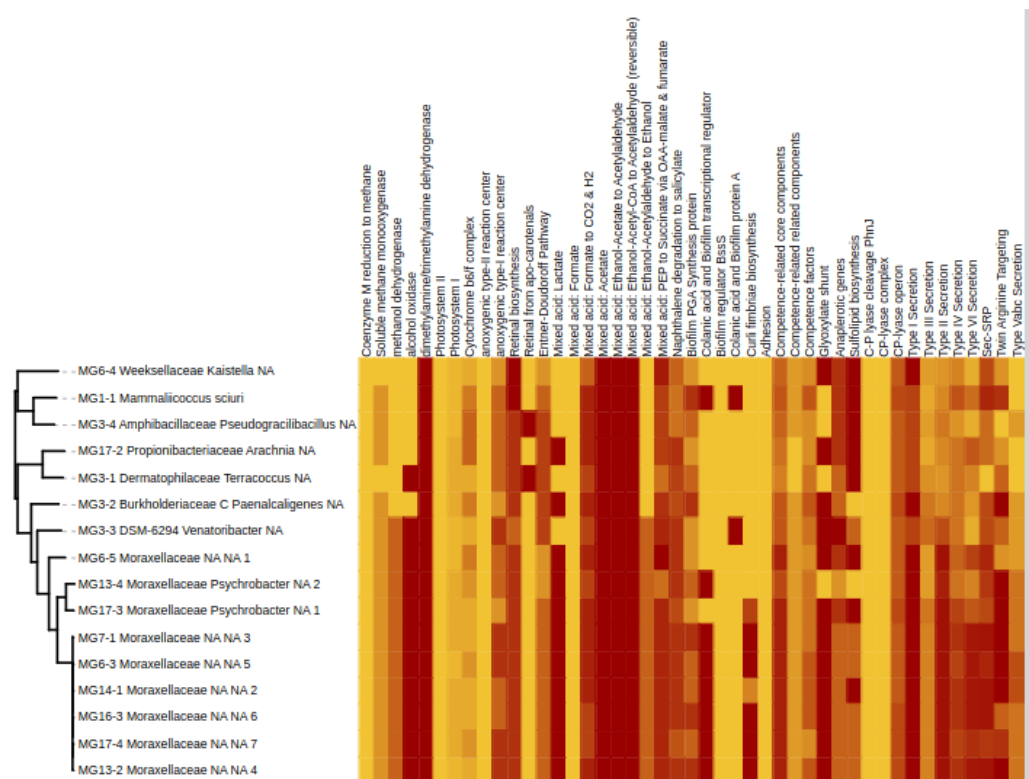


Figura 6. c) Árbol filogenético y mapa de calor de los genes codificantes a rutas metabólicas presentes en los MAGs

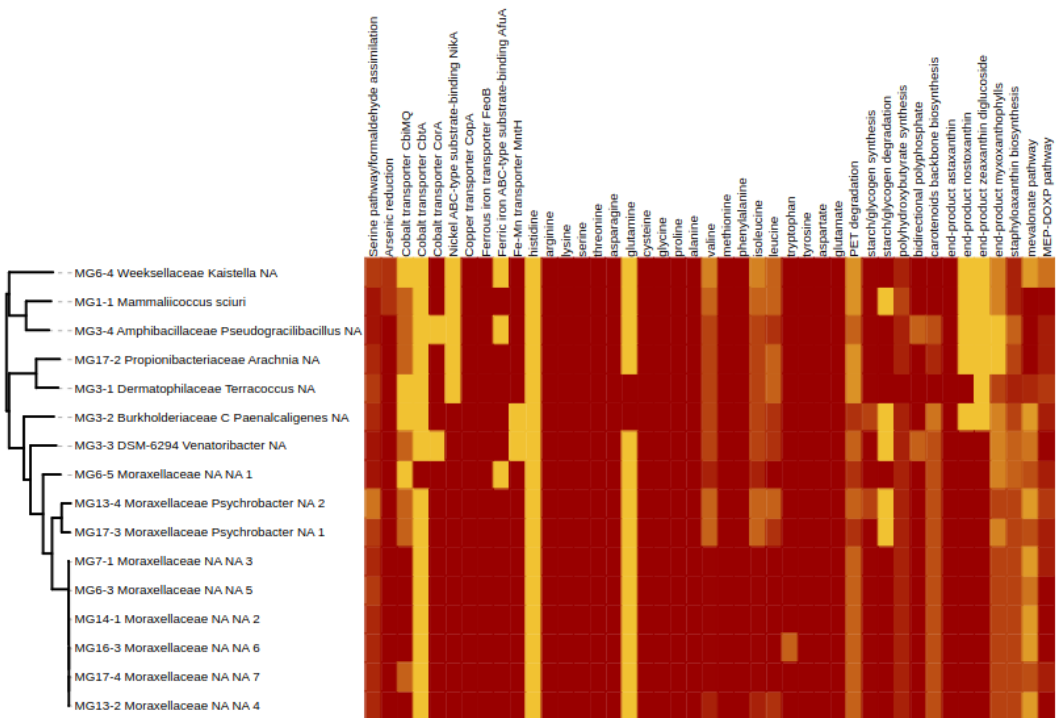


Figura 6. d) Árbol filogenético y mapa de calor de los genes codificantes a rutas metabólicas presentes en los MAGs

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1

<b>Identificación de metagenoma</b>	<b>Muestras de las que provienen</b>	<b>Isla</b>	<b>Fecha de muestreo</b>
MG1_Con_01_21	Pool de hisopos pata, plumaje de lomo y una pluma completa de pecho	Contramaestre	Enero 2021 (puesta de huevos y cría de juveniles)
MG2_Tu1_01_22	Pool de hisopos pata, plumaje lomo, plumaje pecho	Tuckers 1	Enero 2022 (puesta de huevos y cría de juveniles)
MG3_Tu2_01_22	Pool de hisopos pata, plumaje lomo, plumaje pecho	Tuckers 2	Enero 2022 (puesta de huevos y cría de juveniles)
MG4_Con_02_22	Pool de hisopos pata, plumaje lomo, plumaje pecho	Contramestre	Febrero 2022 (cría de juveniles)
MG6_Tu1_10_22	Plumas de lomo y pecho	Tuckers 1	Octubre 2022 (cortejo)
MG7_Tu2_10_22	Plumas de lomo y pecho	Tuckers 2	Octubre 2022 (cortejo)
MG8_Rup_10_22	Hisopos frotados a distancia del pingüino (pingüino estaba dentro del nido)	Rupert	Octubre 2022 (cortejo)
MG9_Rup_12_22	Plumas lomo y pecho	Rupert	Diciembre 2022 (puesta de huevos)
MG10_Mon_12_22	Hisopos frotados a distancia del pingüino (pingüino estaba dentro del nido)	Monmouth	Diciembre 2022 (puesta de huevos)
MG13_Tu1_01_23	Plumas de lomo y pecho	Tuckers 1	Enero 2023 (puesta de huevos y cría de juveniles)
MG14_Tu2_01_23	Plumas de lomo y pecho	Tuckers 2	Enero 2023 (puesta de huevos y cría de juveniles)
MG16_Rup_01_23	Plumas lomo y pecho	Rupert	Enero 2023 (puesta de huevos y cría de juveniles)
MG17_Mon_01_23	Plumas lomo y pecho	Monmouth	Enero 2023 (puesta de huevos y cría de juveniles)

Tabla 1. Descripción de cada uno de los metagenomas utilizados en éste estudio.



Tabla 2

<b>Metagenoma</b>	<b>Lecturas Crudas</b>	<b>Lecturas recortadas</b>	<b>Lecturas filtradas contra genoma humano</b>	<b>Lecturas filtradas contra genoma humano y pingüino</b>
<b>MG1_Con_01_21</b>	24,176,600	14,975,120	14,906,780	813,137
<b>MG2_Tu1_01_22</b>	30,23,473	2,181,002	2,156,697	1,634,808
<b>MG3_Tu2_01_22</b>	24,823,439	18,810,217	18,727,075	18,640,489
<b>MG4_Con_02_22</b>	983,993	578,447	576,061	529,469
<b>MG6_Tu1_10_22</b>	22,460,665	14,326,414	14,320,989	14,292,679
<b>MG7_Tu2_10_22</b>	6,025,841	4,178,809	4,173,258	4,084,901
<b>MG8_Rup_10_22</b>	2,920,430	1,744,165	1,741,348	1,732,682
<b>MG9_Rup_12_22</b>	24,031,701	12,611,369	12,606,405	12,598,405
<b>MG10_Mon_12_22</b>	24,096,041	16,128,615	16,123,988	16,112,095
<b>MG13_Tu1_01_23</b>	23,470,172	14,743,860	14,738,275	14,466,206
<b>MG14_Tu2_01_23</b>	43,897,324	31,310,264	31,184,846	5,220,159
<b>MG16_Rup_01_23</b>	47,710,108	33,941,234	33,919,590	33,879,439
<b>MG17_Mon_01_23</b>	29,686,188	19,318,495	19,309,825	19,209,270

Tabla 2. Total de lecturas resultantes en cada paso del pre-procesamiento

Tabla 3

MAG	Isla	Filo	Clase	Orden	Familia	Género	Especie
MG6-4	Tuckers 1	Bacteroidota	Bacteroidia	Flavobacteriales	Weeksellaceae	Kaistella	x
MG6-5	Tuckers 1	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG3-2	Tuckers 2	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Paenalcaligenes	x
MG14-1	Tuckers 2	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG7-1	Tuckers 2	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG13-2	Tuckers 1	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG6-3	Tuckers 1	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG3-1	Tuckers 2	Actinomycetota	Actinomycetia	Actinomycetales	Dermatophilaceae	Terracoccus	x
MG16-3	Rupert	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG3-3	Tuckers 2	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	DSM-6294	Venatoribacter	x
MG17-3	Monmouth	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Psychrobacter	x
MG17-4	Monmouth	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	x	x
MG17-2	Monmouth	Actinomycetota	Actinomycetia	Propionibacteriales	Propionibacteriaceae	Arachnia	x
MG1-1	Contra- maestre	Bacillota	Bacilli	Staphylococcales	Staphylococcaceae	Mammalicoccus	Mammalicoccus sciuri
MG3-4	Tuckers 2	Bacillota	Bacilli	Bacillales	Amphibacillaceae	Pseudogracilibacillus	x
MG13-4	Tuckers 1	Pseudomonadota	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Psychrobacter	x

Tabla 3. Clasificación taxonómica de cada MAG.

## APÉNDICES

### 1- Pre-procesamiento de muestras

```
#!/bin/bash
cd ../raw_fastq
for f in *_1.fastq.gz
do
    n=${f%%*_1.fastq.gz}
    trimmomatic PE -phred33 -summary ${n}_p_summary -threads 32 \
    ${n}_1.fastq.gz ${n}_2.fastq.gz \
    ${n}_1_p_tr.fastq.gz ${n}_1_p_un.fastq.gz \
    ${n}_2_p_tr.fastq.gz ${n}_2_p_un.fastq.gz \
    ILLUMINACLIP:adapters.fa:2:30:10 LEADING:10 TRAILING:3
    SLIDINGWINDOW:4:30 MINLEN:36 HEADCROP:10
done
```

### 2- Mapeo a genoma humano y genoma de pingüino de Magallanes

```
#!/bin/bash
# el siguiente paso crea el indice de el genoma de referencia
cd /ahul/home/bvazquez/pinguinos/reference_genomes/
for file in *.fasta;
do
    bowtie2-build $file ${file/.fasta/_host_DB}
done

# bowtie2 mapeo contra la base de datos del hospedero humano,
#mantener tanto las lecturas que alinearon y las que no

for file in /ahul/home/bvazquez/pinguino/trimm_sequences/*_1_tr.fastq.gz
do
    n=${file%%*_1_tr.fastq.gz}
    bowtie2 -p 8 -x humano_host_DB -1 ${n}_1_tr.fastq.gz -2 ${n}_2_tr.fastq.gz -S $
    {n}_mapped_and_unmapped_human.sam
# convertir el archivo sam en bam (binario)

    samtools view -bS ${n}_mapped_and_unmapped_human.sam >
    ${n}_mapped_and_unmapped_human.bam

    samtools view -b -f 12 -F 256 \
    ${n}_mapped_and_unmapped_human.bam \
```

```

${n}_bothReadsUnmapped_human.bam

# separar las lecturas en R1 y R2, en nuestro caso 1.fastq.tr.gz ...
samtools sort -n -m 20G -@ 2 ${n}_bothReadsUnmapped_human.bam -o $
{n}_bothReadsUnmapped_human_sorted.bam

samtools fastq -@ 8 ${n}_bothReadsUnmapped_human_sorted.bam \
-1 ${n}_host_human_removed_R1.fastq.gz \
-2 ${n}_host_human_removed_R2.fastq.gz \
-0 /dev/null -s /dev/null -n

done

# ahora contra el genoma del pinguino
for file in *_R1.fastq.gz
do
    n=${file%%*_1_tr.fastq.gz}
    bowtie2 -p 8 -x penguin_host_DB -1 ${n}_R1.fastq.gz -2 ${n}_R2.fastq.gz -S $
{n}_mapped_and_unmapped_penguin.sam

# convertir el archivo sam en bam (binario)
samtools view -bS ${n}_mapped_and_unmapped_penguin.sam >
${n}_mapped_and_unmapped_penguin.bam

samtools view -b -f 12 -F 256 ${n}_mapped_and_unmapped_penguin.bam $
{n}_bothReadsUnmapped_penguin.bam

# separar las lecturas en R1 y R2, en nuestro caso 1.fastq.tr.gz ...

samtools sort -n -m 20G -@ 2
${n}_bothReadsUnmapped_penguin.bam -o $
{n}_bothReadsUnmapped_penguin_sorted.bam

samtools fastq -@ 8 ${n}_bothReadsUnmapped_penguin_sorted.bam
-1 ${n}_host_penguin_removed_R1.fastq.gz -2
${n}_host_penguin_removed_R2.fastq.gz -0 /dev/null -s /dev/null -n

done

```

### 3- Obtención de contigs

```
#!/bin/bash
#ensamble con MEGAHIT

for file in *_host_human_removed_host_pinguino_removed_R1.fastq.gz
do
    n=${file%%*_host_human_removed_host_pinguino_removed_R1.fastq.gz}

    megahit -1
    ${n}_host_human_removed_host_pinguino_removed_R1.fastq.gz
    -2 ${n}_host_human_removed_host_pinguino_removed_R2.fastq.gz -t
    64 -o ./${n}_megahit_output
done

#ensamble con SPADES

for f in *_host_human_removed_host_pinguino_removed_R1.fastq.gz
do
    n=${f%%*_host_human_removed_host_pinguino_removed_R1.fastq.g}
    SPAdes-3.15.5-Linux/bin/spades.py --meta -1
    ${n}_host_human_removed_host_pinguino_removed_R1.fastq.gz -2
    ${n}_host_human_removed_host_pinguino_removed_R2.fastq.gz -t 40
    -o ${n}_metaspades_output
done
```

### 4- Comparación de ensamblajes

```
#!/bin/bash
for file in *_spades_contigs.fasta
do
    n=${file%%*_spades_contigs.fasta}
    metaquast.py ${n}_megahit_contigs.fasta ${n}_spades_contigs.fasta -o $
    {n}_quast_output
done
```

### 5- Binning

```
#!/bin/bash
#binning con maxbin2
cd /ahul/home/bvazquez/pinguinos/spades_contigs/
/srv/home/urodriguez/pipeline_MAGS_metagenomas_2016_2020/maxbin_2
```

```

for file in *.sam
do
    n=${file%%.sam}
    samtools view -bS ${n}.sam > ${n}_to_sort.bam
    samtools sort ${n}_to_sort.bam -o ${n}.bam
    samtools index ${n}.bam
done

for i in *.bam.abundance.txt
do
    pileup.sh in=$i out=${i}.cov.txt
    awk '{print $1"\t"$5}' ${i}.cov.txt | grep -v '^#' > ${i}.abundance.txt
    n=${i%%.bam.abundance.txt}

    run_MaxBin.pl -thread 24 -contig ${n}_spades_contigs.fasta -out ${n}_maxbin -abund
    ${n}.bam.abundance.txt
done

# binning con metabat2
#source ~/miniconda3/etc/profile.d/conda.sh
cd /ahul/home/bvazquez/pinguinos/spades_contigs/
/srv/home/urodriguez/pipeline_MAGS_metagenomas_2016_2020/metabat2
conda activate metabat

for i in *_spades_contigs.fasta;
do
    n=${i%%_spades_contigs.fasta}
    runMetaBat.sh -m 2500 ${n}_spades_contigs.fasta ${n}.bam
done

#binning con metaCOAG
for i in *_spades_contigs.fasta;
do
    n=${i%%_spades_contigs.fasta}
    MetaCoAG --assembler spades --graph
    /ahul/home/bvazquez/pinguinos/spades_contigs/${n}_graph_file.gfa --contigs
    /ahul/home/bvazquez/pinguinos/spades_contigs/${n}_spades_contigs.fasta --paths
    /ahul/home/bvazquez/pinguinos/spades_contigs/${n}_paths_file.paths --abundance

```

```
/ahul/home/bvazquez/pinguinos/spades_contigs/${n}_abundance.tsv --output
/ahul/home/bvazquez/pinguinos/binning/metaCOAG/
```

## 6- Refinamiento de bins

```
#!/bin/bash
Rscript Binning_refiner.R /ahul/home/bvazquez/pinguinos/binning/bins
/ahul/home/bvazquez/binning/pinguinos/refined_bins/
```

## 7- Obtención de MAGs

```
#!/bin/bash
checkm data
checkm lineage_wf -- threads 4 -x fasta /ahul/home/bvazquez/pinguinos/binning/refined_bins
/ahul/home/bvazquez/pinguinos/checkm
```

```
checkm qa -- threads 4 -o 2 -f summary /ahul/home/bvazquez/pinguinos/checkm/lineage.ms
/ahul/home/bvazquez/checkm > /ahul/home/bvazquez/pinguinos/checkm/output_quality.txt
```

## 8- Clasificación taxonómica

```
#!/bin/bash
cd /ahul/home/bvazquez/pinguinos/gtdbtk
#source ~/miniconda3/etc/profile.d/conda.sh
conda activate gtdbtk

wget https://data.ace.uq.edu.au/public/gtdb/data/releases/release207/207.0/gtdbtk_data.tar.gz
tar -xvzf gtdbtk_data.tar.gz
export GTDBTK_DATA_PATH=/ahul/home/bvazquez/pinguinos/gtdbtk

gtdbtk classify_wf --genome_dir /ahul/home/bvazquez/pinguinos/binning/refined_bins --out_dir
/ahul/home/bvazquez/pinguinos/gtdbtk --cpus 4
```

## 9- Anotación funcional

```
#!/bin/bash
source ~/miniconda3/etc/profile.d/conda.sh
conda activate prokka
cd /ahul/home/bvazquez/pinguinos/mags
```

```
for F in *.fasta; do
    N=$(basename $F .fasta) ;
```

```
prokka --kingdom Bacteria --cpus 40 --locustag $N --outdir $N --prefix $N $F
done
```

## 10- Obtención de genes ortólogos y árbol filogenético

```
#!/bin/bash
```

```
source ~/miniconda3/etc/profile.d/conda.sh
conda activate orthofinder
cd /ahul/home/bvazquez/pinguinos/genomica_comparativa/pangenoma/mags

orthofinder -f genomas_faa -S diamond -M msa -t 40 -a 20 -n orthofinder_output
```

## 11- Identidad promedio de nucleótidos

```
#!/bin/bash
```

```
source ~/miniconda3/etc/profile.d/conda.sh
conda activate fastani
cd /ahul/home/bvazquez/pinguinos/mags/

fastANI --fragLen 1000 -q genomas_fasta/MG7_binning_1.fasta --rl genomas_fasta/reference_list.txt -
o fastani.out
```

## 12- Matriz pangenómica

```
#!/bin/bash
```

```
cd /ahul/home/bvazquez/pinguinos/mags/

/srv/home/bvazquez/get_homologues-3.4.3/get_homologues.pl -d ./gbk_files -t 0 -M -n 40 -X -e
/srv/home/bvazquez/get_homologues-3.4.3/get_homologues.pl -d ./gbk_files -t 0 -G -n 40 -X -e
/srv/home/bvazquez/get_homologues-3.4.3/get_homologues.pl -d ./gbk_files -n 40 -X -e
/srv/home/bvazquez/get_homologues-3.4.3/get_homologues.pl -d ./gbk_files -t 16 -M -e -n 40 -X
/srv/home/bvazquez/get_homologues-3.4.3/get_homologues.pl -d ./gbk_files -t 16 -G -e -n 40 -X
/srv/home/bvazquez/get_homologues-3.4.3/get_homologues.pl -d ./gbk_files -t 16 -e -n 40 -X
/srv/home/bvazquez/get_homologues-3.4.3/get_homologues.pl -d ./gbk_files -n 40 -X -e -D

/srv/home/bvazquez/get_homologues-3.4.3/compare_clusters.pl -o matriz_mags -m -d
./gbk_files_homologues/CandidatusVallotialariciataAd13-
081VallotiaGCA020541325_dmd_f0_0taxa_algOMCL_e1_
```



### 13- Obtención de rutas metabólicas presentes

```
#!/bin/bash
```

```
source ~/miniconda3/etc/profile.d/conda.sh
conda activate kofamscan
```

```
cd /ahul/home/bvazquez/pinguinos/genomica_comparativa/pangenoma/mags/mags_fasta
```

```
for file in *.fasta ;
do
```

```
    exec_annotation --cpu 25 -p /srv/home/bvazquez/kofamscan_db/profiles/ -k
    /srv/home/bvazquez/kofamscan_db/ko_list -o ${file/.fasta/_kofam_out} $file
```

```
done
```

```
/srv/home/bvazquez/miniconda3/envs/keggdecoder/bin/KEGG-decoder --input
secuencia_genes_candidatos_kofam_out_2 -o
secuencia_genes_candidatos_kofam_out_2_keggdecoder -v static
```

### 14- Tabla de rutas metabólicas presentes

C = Completa, I = Incompleta, A = Ausente

Ruta	MG1-1	MG3-4	MG17-3	MG3-2	MG6-5	MG13-2	MG14-1	MG16-3	MG17-4	MG6-3	MG7-1	MG3-1	MG6-4	MG17-2	MG3-3	MG13-4
Glicolisis	C	C	I	I	I	I	C	I	C	C	C	I	I	I	I	I
Gluconogénesis	A	A	I	I	I	I	C	I	C	C	C	A	I	A	I	I
Ciclo TCA	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
NAD(P)H-quinona oxidoreductasa	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
NADH quinona oxidoreductasa	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Na-NADH ubiquinona oxidoreductasa	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	I	I	I
ATPasa tipo F	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
ATPasa tipo V	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Citocromo C oxidasa	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Ubiquinol citocromo c reductasa	C	C	I	C	A	I	I	I	I	I	I	I	A	C	I	I
Citocromo o ubiquinol oxidasa	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	A	A	A	I
Citocromo aa3-60 o menaquinol oxidasa	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	A	A	A	A
Citocromo c oxidasa tipo cbb3	I	I	C	C	I	I	I	I	I	I	I	I	A	I	C	I
Complejo citocromo bd	A	A	A	A	A	I	I	I	I	I	I	I	A	I	A	A
RuBisCo	A	A	A	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Ciclo Calvin Benson	A	A	A	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

Ciclo TCAr	C	C	A	C	C	C	C	C	C	A	C	A	A	C	C	A
Wood-Ljungdahl	I	I	I	I	I	I	I	I	A	I	I	I	I	I	I	I
3-hidroxi-propionato bicíclico	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
4-hidroxi-butirato/3-hidroxi-propionato	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Pectinesterasa	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Deacetilquitobiosasa	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Glucoamilasa	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	A	C	A	A
D-galacturonato epimerasa	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Exo-poli-alfa-galacturonosidasa	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Oligogalacturónido liasa	A	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	A	C	A	A	C
Celulasa	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Exopoligalacturonasa	A	A	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Quitinasa	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Endoquitinasa básica B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Quitinasa bifuncional/lizozima	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Beta-N-acetilhexosaminidasa	A	A	C	C	C	A	A	A	A	A	A	C	A	C	C	C
D-galacturonato isomerasa	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Alfa-amilasa	A	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	C	C	A	A
Beta-glucosidasa	A	A	C	C	C	A	A	A	A	A	A	C	A	C	C	C
Pululanasa	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	C	C	A	A
Oxidación de amoníaco	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Oxidación de hidroxilamina	A	A	A	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Oxidación de nitrito	C	A	A	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	A	A
Reducción de nitrato disimulado	C	A	A	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	A	A
DNRA	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A	A	C	C	C
Reducción de nitrito	C	C	C	C	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Reducción de óxido nítrico	A	C	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Reducción de óxido nítrico	A	C	A	A	A	C	C	C	C	C	C	A	C	A	C	A
Fijación de nitrógeno	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Hidrazina deshidrogenasa	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

Hidrazina sintasa	A	A	A	I	A	I	I	I	I	I	I	I	A	A	A	A
Sulfato disimuladorio <> APS	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Sulfito disimuladorio <> APS	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Sulfito disimuladorio <> sulfuro	C	A	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	A	C	C	A
Oxidación de tiosulfato	I	I	I	I	A	I	I	I	I	I	I	I	A	I	I	I
Oxidación de tiosulfato alternativo tsdA	C	C	C	C	A	C	C	C	C	C	C	C	A	C	C	C
Oxidación de tiosulfato alternativo doxAD	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Sulfuro reductasa sreABC	I	A	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	I
Tiosulfato/polisulfido reductasa	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Sulfhidrogenasa	I	I	C	C	C	C	C	C	C	C	C	I	I	C	I	I
Desproporción de azufre	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Sulfurdihoxigenasa	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A	C	C	C	C
Sulfito deshidrogenasa	A	A	A	C	A	C	C	C	A	C	C	A	A	A	A	A
Sulfito deshidrogenasa (quinona)	I	A	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Oxidación de sulfuro	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Asimilación de azufre	C	A	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	A	A	C	A
DMSP desmetilación	C	A	C	A	A	A	C	A	A	A	C	C	C	C	C	A
DMS deshidrogenasa	I	A	A	I	A	A	A	A	A	A	A	A	A	I	A	A
DMSO reductasa	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
NiFe hidrogenasa	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A	C	A	A
Ferredoxina hidrogenasa	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Hidrogenasa unida a membrana	A	A	C	A	C	C	C	C	A	C	C	C	A	C	A	A
Hidrogeno:quinona oxidoreductasa	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	A	C	A	A
Hidrogenasa reductora de NAD	I	I	I	C	I	C	C	C	C	C	C	C	I	C	A	I
Hidrogenasa reductora de NADP	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	C	I	I	I

NiFe hidrogenasa Hyd-1	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A
Biosíntesis de tiamina	C	C	I	C	C	I	I	I	C	I	I	C	I	I	C	I
Biosíntesis de riboflavina	C	I	C	C	C	C	I	C	C	C	C	I	C	A	I	C
Biosíntesis de cobalamina	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	C	I	I	I	I	I
Transportador de vitamina B12	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Transportador de tiamina	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Transportador de urea	I	C	C	C	I	C	C	I	I	C	C	C	I	I	I	I
Transportador de fosfonato	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Transportador de fosfato	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	I	C	C	C
Flagelo	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Quimiotaxis	I	I	I	C	C	C	C	C	C	C	C	I	I	I	C	I
Metanogénesis via metanol	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	I	I
Metanogénesis via acetato	I	A	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	A	A	I	I
Metanogénesis via dimetilsulfido, metanetiolo, metilpropanoato	I	A	C	C	C	I	I	I	I	I	C	C	I	A	C	A
Metanogénesis via metilamina	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Metanogénesis via trimetilamina	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	A	A
Metanogénesis via dimetilamina	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	I	A
Metanogénesis via CO2	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Coenzima B/Regeneración de coenzima M	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	C	I	I
Reducción de coenzima M a metano	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Metano soluble monooxigenasa	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	A	I	I	I
Metanol deshidrogenasa	A	A	I	A	I	I	I	I	I	I	I	A	A	A	I	I
Alcohol oxidasa	A	A	C	A	C	C	C	C	C	C	C	C	A	A	C	C
Dimetilamina/trimetilamina deshidrogenasa	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Fotosistema II	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Fotosistema II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Complejo citocromo b6/f	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I

Centro de reacción anoxigénico tipo II	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Centro de reacción anoxigénico tipo I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Biosíntesis de retinal	C	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	C	I	I	I
Retinal a partir de apocarotenoides	A	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	A	A	A	A
Entner-Doudoroff	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Ácido mixto: lactato	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A	A	C	A	C
Ácido mixto: formato	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Ácido mixto: formato a CO2 y H2	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Ácido mixto: acetato	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Ácido mixto: etanol, acetato a acetaldehído	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Ácido mixto: etanol, acetyl-CoA	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Ácido mixto: etanol, acetilaldehído a etanol	A	A	I	A	I	I	I	I	I	I	I	A	A	A	I	I
Ácido mixto: PEP a succinato vía OAA, malato y fumarato	I	I	I	I	C	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Degradación de naftaleno a salicilato	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Proteína PGA de síntesis de biopelículas	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Ácido colánico y regulador transcripcional de biopelículas	C	A	A	A	A	C	C	C	C	C	C	A	A	A	A	C
Regulador de biopelículas BssS	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Ácido colánico y proteína A de biopelículas	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	A
Biosíntesis de fimbrias curli	A	A	I	A	A	I	I	I	I	I	I	A	A	A	A	A
Adhesión	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Componentes centrales relacionados con la competencia	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I

Componentes relacionados con las competencias	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	I	A	I	I
Factores de competencia	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Derivación de glioxilato	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A	C	C	C	A
Genes anapleróticos	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	C	I
Biosíntesis de sulfolípidos	C	C	C	A	C	I	C	I	I	I	I	C	C	C	I	A
Escisión de CP liasa PhnJ	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Complejo C-P liasa	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Operon C-P liasa	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Sistema de secreción tipo I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Sistema de secreción tipo III	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Sistema de secreción tipo II	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Sistema de secreción tipo IV	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Sistema de secreción tipo VI	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Sec-SRP	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	I	I	I	I
Objetivo de arginina gemela	I	A	C	C	I	C	C	I	I	C	C	I	I	I	I	C
Sistema de secreción tipo Vabc	A	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	A	A	I	I
Ruta de la serina/ asimilación de formaldehído	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Reducción de arsénico	I	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	I	C	C	C
Transportador de cobalto CbiMQ	I	I	I	A	A	C	C	C	I	C	C	A	A	I	I	I
Transportador de cobalto CbtA	A	A	A	A	C	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Transportador de cobalto CorA	C	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A	C
Sustrato de níquel tipo ABC vinculante Nik	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A	A	A	C	C
Transportador de cobre CopA	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Transportador de hierro ferroso FeoB	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Sustrato de hierro férrico tipo ABC que se une a AfuA	C	A	C	C	A	C	C	C	C	C	C	C	A	C	C	C

Transportador de Fe-Mn MntH	C	C	C	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A	C
Histidina	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Arginina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Lisina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Serina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Treonina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Asparagina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Glutamina	A	A	A	C	A	A	A	A	A	A	A	C	A	A	A	A
Cisteina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Glicina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Prolina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Alanina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Valina	I	I	I	I	I	I	C	C	C	C	C	I	I	I	I	I
Metionina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Fenilalanina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Isoleucina	I	I	I	I	I	I	C	C	C	C	C	I	I	I	I	I
Leucina	I	I	I	I	C	I	C	C	C	C	C	I	I	I	I	I
Triptofano	C	C	C	C	C	C	C	I	C	C	C	C	C	C	C	C
Tirosina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Aspartato	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Glutamato	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Degradación de PET	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Síntesis de almidón/glucógeno	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Degradación de almidón/glucógeno	A	C	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	A	A
Síntesis de polihidroxibutirato	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	C	I	I	I	I
Polifosfato bidireccional	C	I	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	I	C
Biosíntesis de columna de carotenoides	C	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	C	C	I	I	I
Producto final astaxantina	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Producto final nostoxantina	A	A	C	A	C	C	C	C	C	C	C	C	A	A	C	C
Producto final diglucósido de zeaxantina	A	A	C	A	C	C	C	C	C	C	C	A	A	A	C	C
Producto final mixoxantofilis	I	A	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	A	I	I
Biosíntesis de estafiloxantina	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
Ruta del mevolanato	C	C	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	C	I	I
MEP-DOXP	C	I	I	I	I	C	C	C	I	C	I	I	I	I	C	I

## GLOSARIO

**3-hidroxiopropionato:** Compuesto químico intermedio en ciertas rutas metabólicas de organismos, implicado en la síntesis de diversos productos biológicos.

**16S:** Molécula de ARN ribosomal utilizada para identificar y clasificar bacterias en estudios de secuenciación genética.

**Aceite uropigial:** Sustancia oleosa producida por la glándula uropigial de las aves, utilizada para el mantenimiento y protección del plumaje.

**Acetato:** Sal o éster del ácido acético, producido durante la fermentación y el metabolismo de lípidos y carbohidratos, y utilizado como fuente de energía por diversos organismos.

**Acicalamiento:** Comportamiento de limpieza y arreglo del propio cuerpo o del cuerpo de otro individuo, común en animales para mantener la higiene y fortalecer vínculos sociales.

**Ácido colánico:** Exopolisacárido producido por ciertas bacterias, que forma parte de la matriz de las biopelículas.

**Ácidos nucleicos:** Macromoléculas biológicas que incluyen ADN (ácido desoxirribonucleico) y ARN (ácido ribonucleico), responsables de almacenar, transmitir y expresar la información genética en los organismos vivos.

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico, molécula que contiene la información genética de los seres vivos.

**Aerobio:** Organismo o proceso que requiere oxígeno para llevarse a cabo.

**Alfa-amilasa:** Enzima que cataliza la hidrólisis del almidón en azúcares simples.

**Algoritmo:** Conjunto de reglas o instrucciones definidas que permiten resolver un problema o realizar una tarea específica de manera automatizada.



**Almidón:** Polisacárido de almacenamiento compuesto por glucosa, encontrado principalmente en plantas, que sirve como reserva de energía.

**Aminoácidos:** Moléculas orgánicas que se combinan para formar proteínas y son esenciales para diversas funciones biológicas.

**Anaerobio:** Organismo o proceso que ocurre en ausencia de oxígeno.

**Anotación funcional:** Proceso mediante el cual se asignan funciones biológicas a genes y proteínas identificados en una secuencia genética, utilizando bases de datos y herramientas bioinformáticas.

**Antimicrobiano:** Sustancia que mata o inhibe el crecimiento de microorganismos, incluyendo bacterias, hongos y virus.

**Árbol de la vida:** Representación gráfica que muestra las relaciones evolutivas entre todas las especies de organismos vivos y extintos, ilustrando cómo han divergido de un ancestro común a lo largo del tiempo.

**Árbol filogenético:** Diagrama que muestra las relaciones evolutivas entre diferentes especies u otros grupos taxonómicos, basadas en similitudes y diferencias genéticas o morfológicas.

**ARN:** Ácido ribonucleico, una molécula polimérica que desempeña un papel crucial en la transmisión de la información genética y la síntesis de proteínas en los organismos vivos.

**Arqueas:** Dominio de microorganismos unicelulares que son similares a las bacterias pero tienen diferencias genéticas y bioquímicas significativas.

**Azúcares complejos:** Carbohidratos formados por largas cadenas de monosacáridos, como el almidón y la celulosa.

**Azúcares simples:** Carbohidratos formados por una o dos unidades de monosacáridos, como la glucosa y la fructosa.

**Bacterias metanotróficas:** Bacterias que utilizan metano como fuente de carbono y energía.

**Bacterias púrpura:** Grupo de bacterias fotosintéticas que contienen bacterioclorofila y pueden realizar fotosíntesis anoxigénica.

**Bacterias:** Microorganismos unicelulares que pueden encontrarse en diversos ambientes, algunos de los cuales son patógenos y otros beneficiosos.

**Beta-glucosidasa:** Enzima que cataliza la hidrólisis de los glucósidos en glucosa y agliconas.

**Binning:** Proceso de agrupar fragmentos de ADN secuenciados (contigs) en conjuntos que representan genomas individuales de microorganismos en una muestra metagenómica.

**Biodiversidad:** Variedad de formas de vida en la Tierra, que incluye la diversidad de especies, genes y ecosistemas.

**Bioinformática:** Disciplina que aplica herramientas computacionales y técnicas estadísticas al análisis y comprensión de datos biológicos, especialmente secuencias genómicas y proteómicas.

**Biomarcadores:** Indicadores medibles de procesos biológicos, fisiológicos o patológicos, utilizados en diagnóstico, pronóstico y seguimiento de enfermedades.

**Biopelículas:** Comunidades de microorganismos que se adhieren a superficies y se rodean de una matriz extracelular que ellos mismos producen.

**Biosíntesis:** Proceso mediante el cual los organismos producen moléculas complejas a partir de precursores simples, involucrando una serie de reacciones enzimáticas.

**Cadena respiratoria:** Serie de complejos proteicos y moléculas en la membrana mitocondrial interna (en eucariotas) o en la membrana plasmática (en procariotas) que transportan electrones y generan un gradiente de protones para producir ATP a través de la fosforilación oxidativa.

**Cambios fenotípicos:** Modificaciones observables en las características físicas, fisiológicas o conductuales de un organismo, resultado de factores genéticos y ambientales, así como de la interacción entre ambos. Estos cambios pueden ser reversibles o permanentes y pueden ser adaptativos o no.

**Capacidad de adhesión:** Habilidad de los microorganismos para adherirse a superficies y formar biopelículas.

**Capacidad de transformación:** Habilidad de los microorganismos para incorporar ADN exógeno y expresarlo en su genoma.

**Catabolismo:** Conjunto de reacciones metabólicas que descomponen moléculas grandes en más pequeñas, liberando energía.

**Cepa:** Variante genética o subgrupo dentro de una especie de microorganismo, planta o animal, que puede tener características distintivas.

**Ciclo Calvin-Benson:** Serie de reacciones bioquímicas en las plantas y algas que convierten el dióxido de carbono en compuestos orgánicos durante la fotosíntesis.

**Ciclo del ácido tricarboxílico:** También conocido como ciclo de Krebs o ciclo del ácido cítrico, es una serie de reacciones químicas que generan energía a través de la oxidación de acetil-CoA.

**Ciclo del nitrógeno:** Serie de procesos biológicos y químicos que convierten el nitrógeno en diferentes formas químicas, esenciales para la vida en la Tierra.

**Ciclos biogeoquímicos:** Procesos naturales que reciclan los elementos químicos esenciales para la vida (como carbono, nitrógeno y fósforo) entre el medio ambiente (atmósfera, hidrosfera, litosfera) y los organismos vivos.

**Clados:** Grupos de organismos que comprenden un ancestro común y todos sus descendientes.

**Clase:** Categoría taxonómica que agrupa a órdenes relacionados dentro de un filo.

**Clasificación taxonómica:** Sistema de organización y categorización de organismos en grupos jerárquicos basados en sus similitudes y diferencias evolutivas y genéticas.

**Cobalamina:** Vitamina B12, necesaria para la formación de glóbulos rojos, la función neurológica y la síntesis de ADN.

**Coenzima:** Molécula orgánica no proteica que se une a una enzima y es esencial para la actividad catalítica de esa enzima.

**Complejo C-P liasa:** Enzima o conjunto de enzimas que catalizan la ruptura de enlaces carbono-fósforo en compuestos organofosforados, permitiendo su utilización o detoxificación.

**Contaminación antropogénica:** Contaminación del medio ambiente causada por actividades humanas, como la emisión de gases industriales, el uso de pesticidas y la acumulación de desechos.

**Contaminación:** Presencia de elementos no deseados o dañinos en un entorno o muestra que pueden interferir con los resultados de un estudio.

**Contigs:** Secuencias continuas de ADN que se ensamblan a partir de fragmentos más cortos obtenidos durante la secuenciación.

**Derivación de glioxilato:** Ruta metabólica alternativa al ciclo del ácido cítrico que permite a ciertos organismos utilizar compuestos de dos carbonos para sintetizar carbohidratos.

**Desproporción de azufre:** Proceso en el que compuestos de azufre se oxidan y reducen simultáneamente por microorganismos en condiciones anaeróbicas.

**Dominio:** Categoría taxonómica más alta, que agrupa a todos los seres vivos en tres grandes grupos: Archaea, Bacteria y Eukarya.

**Ecosistema:** Unidad funcional compuesta por organismos vivos (biocenosis) y su entorno físico (biotopo), interactuando juntos como una unidad en un ambiente específico.

**Ectoparásitos:** Parásitos que viven en la superficie externa del hospedero, como pulgas, garrapatas y piojos.

**Ectosimbiontes:** Organismos que viven en la superficie de otro organismo en una relación simbiótica.

**Endosimbiontes:** Organismos que viven dentro de las células o tejidos de otro organismo en una relación simbiótica.

**Ensamble:** Proceso de unir fragmentos de secuencias de ADN para reconstruir la secuencia original completa del genoma.

**Envejecimiento:** Proceso natural de cambios biológicos y fisiológicos que ocurren en un organismo a lo largo del tiempo, leading to gradual decline in physical and functional abilities.

**Especie:** Unidad básica de clasificación biológica, definida como un grupo de organismos capaces de reproducirse entre sí y producir descendencia fértil.

**Especies silvestres:** Organismos que viven y se reproducen naturalmente en su entorno original, sin intervención humana directa en su reproducción o hábitat.

**Estrecho de Magallanes:** Pasaje marítimo ubicado en el extremo sur de América del Sur, que conecta el océano Atlántico con el océano Pacífico, separando el continente sudamericano de la isla Grande de Tierra del Fuego.

**Estrés oxidativo:** Condición en la que hay un desequilibrio entre la producción de radicales libres y la capacidad del organismo para neutralizarlos, lo que puede dañar células y tejidos.

**Estudios longitudinales:** Investigaciones en las que se recopilan datos de los mismos sujetos a lo largo de un período prolongado de tiempo, lo que permite observar cambios y tendencias a lo largo del tiempo.

**Estudios transversales:** Investigaciones que recopilan datos de un grupo de sujetos en un punto específico en el tiempo, lo que proporciona una instantánea de la situación en ese momento.

**Etanol:** Alcohol producido por la fermentación de azúcares por levaduras y algunos tipos de bacterias.

**Factores de crecimiento:** Sustancias, como vitaminas, aminoácidos y hormonas, que son necesarias en pequeñas cantidades para el crecimiento y el desarrollo de los organismos.

**Fermentación:** Proceso metabólico que convierte los azúcares en ácidos, gases o alcohol en ausencia de oxígeno.

**Fijación de nitrógeno:** Proceso mediante el cual ciertos microorganismos convierten el nitrógeno atmosférico ( $N_2$ ) en amoníaco ( $NH_3$ ), haciéndolo disponible para su uso biológico en la síntesis de aminoácidos y otros compuestos nitrogenados.

**Fijación del carbono:** Proceso bioquímico mediante el cual las plantas, algas y algunas bacterias convierten el dióxido de carbono atmosférico en compuestos orgánicos.

**Fijación del nitrato:** Proceso mediante el cual algunos organismos convierten el nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) en amoníaco ( $\text{NH}_3$ ).

**Filo:** Categoría taxonómica que agrupa a clases relacionadas dentro de un dominio.

**Fimbrias curli:** Estructuras filamentosas en la superficie de ciertas bacterias que les permiten adherirse a superficies y formar biopelículas.

**Firmas de selección:** Marcadores genéticos o patrones observados en el genoma de una población que sugieren la acción de la selección natural sobre ciertos loci. Éstas firmas pueden incluir variaciones en la frecuencia alélica, desequilibrios de ligamiento o diferencias en la diversidad genética, entre otros.

**Flagelos:** Estructuras filamentosas y móviles en la superficie de ciertos organismos, que les permiten nadar o moverse hacia o desde estímulos específicos.

**Formato:** Ion derivado del ácido fórmico, involucrado en varias rutas metabólicas anaeróbicas y utilizado por ciertos microorganismos como fuente de carbono y energía.

**Fosfonatos:** Compuestos orgánicos que contienen un enlace carbono-fósforo, utilizados por algunos microorganismos como fuente de fósforo.

**Fotosíntesis:** Proceso mediante el cual las plantas, algas y algunas bacterias convierten la luz solar, el dióxido de carbono y el agua en glucosa y oxígeno.

**Fotosistemas:** Complejos proteicos en las membranas de las células fotosintéticas que capturan la luz solar y la convierten en energía química durante la fotosíntesis. Hay dos tipos principales: Fotosistema I (PSI) y Fotosistema II (PSII).

**Fracción estimada del genoma:** Proporción del genoma completo de un organismo que se ha podido ensamblar y caracterizar a partir de los datos de secuenciación.

**Género:** Categoría taxonómica que agrupa a especies relacionadas dentro de una familia.

**Genes anapleróticos:** Genes que codifican enzimas involucradas en las reacciones que reponen intermediarios del ciclo del ácido cítrico, esenciales para mantener la función metabólica.

**Genes esenciales:** Genes necesarios para la supervivencia de un organismo en condiciones estándar.

**Genes marcadores:** Genes utilizados para identificar y rastrear organismos, células o procesos específicos en estudios genéticos y biotecnológicos, debido a su asociación con rasgos observables o características específicas.

**Genes ortólogos:** Genes en diferentes especies que se originaron a partir de un ancestro común y generalmente conservan funciones similares.

**Genes:** Segmentos de ADN que contienen la información necesaria para la síntesis de proteínas específicas u otras moléculas funcionales, y que son la unidad básica de la herencia y la expresión génica.

**Genoma:** Conjunto completo de material genético de un organismo, que incluye todos sus genes y secuencias de ADN.

**Genómica comparativa:** Rama de la genómica que compara los genomas de diferentes especies u organismos para identificar similitudes y diferencias, lo que ayuda a entender la evolución, la función de los genes y la organización del genoma.



**Genómica de amplicon:** Técnica que se enfoca en la secuenciación de regiones específicas del ADN, amplificadas mediante PCR, para el análisis de la diversidad microbiana.

**Genómica:** Estudio de los genomas completos de organismos, incluyendo su estructura, función, evolución y mapeo.

**Glándula uropigial:** Glándula situada en la base de la cola de las aves, que secreta el aceite uropigial utilizado en el cuidado del plumaje.

**Glucógeno:** Polisacárido de almacenamiento compuesto por glucosa, encontrado en animales y hongos, que sirve como reserva de energía rápida en el hígado y los músculos.

**Glucólisis:** Ruta metabólica que convierte la glucosa en piruvato, produciendo energía en forma de ATP.

**Glutamina:** Aminoácido no esencial que juega un papel crucial en el metabolismo celular y en la síntesis de proteínas.

**Histidina:** Aminoácido esencial que participa en la síntesis de proteínas y en funciones enzimáticas.

**Holobionte:** Unidad biológica formada por un organismo hospedador y todos los microorganismos asociados que viven en simbiosis con él, incluyendo bacterias, virus, hongos y otros microorganismos.

**Hospederos no canónicos:** Organismos que albergan microorganismos, pero que no son los típicamente estudiados.

**Hospederos:** Organismos que albergan a otro organismo, como parásitos, mutualistas o comensales.

**Isoleucina:** Aminoácido esencial de cadena ramificada, necesario para la síntesis de proteínas y la producción de energía.

**Lactato:** Compuesto producido durante la fermentación láctica y el metabolismo anaeróbico.

**Lecturas cortas:** Fragmentos de ADN secuenciados que tienen una longitud relativamente corta, generalmente producidos por tecnologías de secuenciación de alto rendimiento.

**Leucina:** Aminoácido esencial de cadena ramificada, importante para la síntesis de proteínas y la regulación del metabolismo.

**Linaje:** Grupo de organismos descendientes de un ancestro común, que comparten características genéticas y evolutivas.

**Macroorganismo:** Organismo que puede ser observado a simple vista sin la necesidad de un microscopio, debido a su tamaño relativamente grande en comparación con los microorganismos. Los macroorganismos pueden ser unicelulares o multicelulares y abarcan una amplia gama de formas de vida, desde plantas y animales hasta hongos y algas macroscópicas.

**MAGs (Metagenome-Assembled Genomes):** Genomas ensamblados a partir de datos de secuenciación metagenómica, que representan poblaciones de microorganismos presentes en una muestra ambiental.

**Mapeo:** Proceso de alinear secuencias de ADN secuenciadas contra una secuencia de referencia para identificar similitudes y diferencias.

**Matriz pangenómica:** Representación tabular de los genes presentes en el pangenoma, mostrando qué genes están presentes o ausentes en cada cepa o especie.

**Meta-metabolómica:** Estudio de los metabolitos presentes en una comunidad microbiana a través del análisis de una muestra ambiental.

**Metabolismo autótrofo:** Tipo de metabolismo en el cual los organismos producen su propio alimento a partir de compuestos inorgánicos.

**Metabolismo:** Conjunto de reacciones químicas que ocurren dentro de los organismos para mantener la vida, incluyendo catabolismo y anabolismo.

**Metabolitos:** Moléculas pequeñas y diversas producidas por los procesos metabólicos de los organismos, que incluyen compuestos como aminoácidos, ácidos grasos, vitaminas, hormonas y productos secundarios de metabolismo.

**Metagenoma:** Conjunto completo de material genético de una comunidad microbiana presente en una muestra ambiental, como suelo, agua o el intestino de un animal.

**Metagenómica Shotgun:** Técnica de secuenciación que permite analizar el contenido genético total de una muestra ambiental, secuenciando fragmentos aleatorios de ADN para identificar y caracterizar los microorganismos presentes.

**Metanogénesis:** Proceso biológico de producción de metano por arqueas metanogénicas.

**Metaproteómica:** Estudio de todas las proteínas presentes en una muestra ambiental, proporcionando información sobre las funciones y actividades de los microorganismos presentes.

**Metatranscriptómica:** Análisis del conjunto completo de ARN mensajero (transcriptoma) en una muestra ambiental, proporcionando información sobre la expresión génica de los microorganismos presentes.

**Microbioma:** Conjunto de microorganismos, incluyendo bacterias, arqueas, virus y hongos, que habitan en un ambiente específico, como el cuerpo de un organismo o una parte del mismo.

**Microbiota:** Conjunto de microorganismos (bacterias, arqueas, hongos, virus y otros) que habitan en un ambiente específico, como el intestino, la piel, el suelo o el agua.

**Microorganismo:** Organismo de tamaño microscópico, que solo puede ser observado con la ayuda de un microscopio. Los microorganismos pueden ser unicelulares, como bacterias, arqueas, hongos y protistas, o multicelulares, pero aún así demasiado pequeños para ser vistos a simple vista, como algunos tipos de algas y protozoos.

**N50:** Estadística utilizada en ensamblaje genómico que indica el tamaño de contig más pequeño en el conjunto de contigs más largos que suman al menos el 50% del tamaño total del ensamblaje.

**Nichos:** Rol o posición que un organismo ocupa en un ecosistema, incluyendo su hábitat y sus interacciones con otros organismos.

**Nucleótidos:** Unidad básica de los ácidos nucleicos (ADN y ARN), compuesta por un azúcar, un grupo fosfato y una base nitrogenada.

**Oligogalacturónido liasa:** Enzima que cataliza la despolimerización de oligogalacturónidos, compuestos presentes en las paredes celulares de las plantas.

**Organismo sulforeductor:** Microorganismo que utiliza compuestos de azufre como aceptores de electrones en su metabolismo.

**Organismo:** Cualquier forma de vida individual, que puede ser unicelular o multicelular, capaz de llevar a cabo procesos vitales como el crecimiento, la reproducción y la respuesta a estímulos ambientales.

**Organismos cultivables:** Microorganismos que pueden ser aislados y crecidos en condiciones de laboratorio utilizando medios de cultivo específicos.

**Oxidación de amoníaco:** Proceso en el que el amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) se oxida a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ).

**Pangenoma:** Conjunto completo de genes presentes en todas las cepas de una especie, incluyendo genes esenciales y variables.

**Plumaje:** Conjunto de plumas que cubren el cuerpo de un ave, utilizado para la protección, el aislamiento térmico, la exhibición y el vuelo.

**Polihidroxitirato:** Polímero biológico producido por ciertos microorganismos como reserva de carbono y energía.

**Pristino:** Estado original o sin alteraciones de un ecosistema o muestra, que no ha sido afectado por actividades humanas o contaminaciones externas.

**Procesamiento de muestras:** Conjunto de técnicas y procedimientos utilizados para preparar muestras biológicas para su análisis.

**Proteína:** Macromolécula compuesta de cadenas de aminoácidos, que desempeña funciones esenciales en el cuerpo, como la estructuración, el transporte, la catálisis de reacciones químicas y la regulación de procesos biológicos.

**Pululanasa:** Enzima que cataliza la hidrólisis del almidón en maltosa y glucosa mediante la rotura de los enlaces glucosídicos.

**Quimiotaxis:** Movimiento dirigido de un organismo o célula en respuesta a un gradiente químico en su entorno.

**Reducción de arsénico:** Proceso biológico o químico mediante el cual los compuestos de arsénico son transformados en formas menos tóxicas.

**Reducción de nitrito:** Proceso en el que el nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) se convierte en otros compuestos, como amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) o nitrógeno molecular ( $\text{N}_2$ ), generalmente llevado a cabo por bacterias desnitrificantes en condiciones anaeróbicas.

**Reducción de óxido nitroso:** Proceso en el que el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) se reduce a nitrógeno molecular (N<sub>2</sub>), parte final de la desnitrificación, realizado por ciertas bacterias en condiciones anaeróbicas.

**Resistoma:** Conjunto de genes de resistencia a los antimicrobianos presentes en una comunidad microbiana, que pueden transmitirse entre diferentes especies bacterianas y contribuir a la resistencia antimicrobiana global.

**Retinal:** Pigmento fotosensible presente en los ojos de muchos organismos, que participa en la conversión de la luz en señales eléctricas.

**Riboflavina:** Vitamina B<sub>2</sub>, importante para el metabolismo energético y la función celular, y actúa como coenzima en diversas reacciones bioquímicas.

**RuBisCo:** Enzima clave en la fotosíntesis que cataliza la fijación del dióxido de carbono atmosférico en compuestos orgánicos.

**Ruta de la serina:** Serie de reacciones metabólicas que convierten intermediarios del ciclo del ácido cítrico en serina, un aminoácido.

**Ruta DNRA:** Reducción de Nitrato a Amoníaco Disimilatoria, es un proceso microbiano en el cual los microorganismos utilizan el nitrato como aceptor terminal de electrones, reduciéndolo a amoníaco en condiciones anaeróbicas.

**Ruta metabólica:** Serie de reacciones químicas interconectadas que ocurren en el interior de una célula y que están catalizadas por enzimas, que transforman compuestos químicos en productos finales para mantener la vida y el crecimiento celular.

**Ruta secundaria:** Serie de reacciones metabólicas que se bifurcan de las rutas principales del metabolismo, generalmente para producir metabolitos secundarios, como pigmentos, compuestos aromáticos o sustancias de defensa, que no son esenciales para el crecimiento celular pero tienen funciones específicas.

**Secuenciación de nueva generación:** Técnica de secuenciación de ADN que permite la determinación rápida y a gran escala del orden de nucleótidos en fragmentos de ADN, utilizando plataformas de secuenciación de alta capacidad y eficiencia.

**Secuenciación:** Proceso de determinar el orden de los nucleótidos en una molécula de ADN o ARN.

**Simbiosis:** Relación interactiva y duradera entre dos organismos de diferentes especies, que puede ser beneficiosa, perjudicial o neutral para ambos participantes.

**Síntesis:** Proceso de producción o creación de una sustancia o compuesto químico a partir de sus componentes básicos o precursores, mediante reacciones químicas controladas.

**Sistemas de secreción:** Mecanismos utilizados por las células para transportar moléculas, como proteínas y toxinas, desde el interior al exterior de la célula o hacia otras células. En bacterias, hay varios tipos (I-VII), cada uno con su propio conjunto de componentes y funciones específicas.

**Software:** Conjunto de programas de computadora, instrucciones y datos que permiten realizar diversas tareas en una computadora o dispositivo electrónico.

**Sulfolípidos:** Lípidos que contienen grupos sulfato, presentes en las membranas de ciertos organismos, y que desempeñan roles en la estructura y función celular.

**Terapia probiótica:** Uso de microorganismos vivos, como bacterias o levaduras, con propiedades beneficiosas para la salud, para tratar o prevenir enfermedades.

**Tiamina:** Vitamina B1, esencial para el metabolismo de los carbohidratos y el funcionamiento del sistema nervioso.

**Transcriptoma:** Conjunto de todos los ARN mensajeros (ARNm) transcritos en una célula, tejido o organismo en un momento dado, que refleja la actividad génica y los procesos biológicos en curso.

**Valina:** Aminoácido esencial de cadena ramificada, involucrado en la construcción de proteínas y en la provisión de energía a los músculos.

**Viroma:** Conjunto de virus presentes en un ambiente o en un organismo específico.

**Virus:** Agentes infecciosos submicroscópicos que requieren células huésped para replicarse.

**Vitamina:** Compuesto orgánico esencial en pequeñas cantidades para el crecimiento y la salud, que generalmente no puede ser sintetizado por el organismo y debe obtenerse a través de la dieta.

**Wood-Ljungdahl:** Vía metabólica anaeróbica que permite a ciertos microorganismos utilizar el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) como fuente de carbono y energía.

**Zonas templadas:** Regiones de la Tierra ubicadas entre los trópicos y los círculos polares, caracterizadas por tener temperaturas moderadas y variadas estaciones, con inviernos fríos y veranos cálidos.