

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



Maestría en Ciencias en Ecología Marina

**Identificación de bacterias fotoheterótrofas cultivables
productoras de rodopsinas en la cuenca del sur de California y
en bases de datos genómicas globales**

Tesis para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestro en Ciencias

Presenta:

Jaime Abdiel Lázaro García

Ensenada, Baja California, México
2020

Tesis defendida por

Jaime Abdiel Lázaro García

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. Laura Gómez Consarnau

Director de tesis

Miembros del comité

Dra. María Asunción Lago Lestón

Dra. Jose Miguel Sandoval Gil

Dra. Olga Alicia Callejas Negrete

Dr. Ernesto García Mendoza



Dr. Jorge Adrián Rosales Casián

Coordinador del Posgrado en Ecología Marina

Dra. Rufina Hernández Martínez

Directora de Estudios de Posgrado

Jaime Abdiel Lázaro García, 2020

Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor y director de la tesis.

Resumen de la tesis que presenta **Jaime Abdiel Lázaro García** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Ecología Marina.

Identificación de bacterias fotoheterótrofas cultivables productoras de rodopsinas en la cuenca del sur de California y en bases de datos genómicas globales.

Resumen aprobado por:

Dra. Laura Gómez Consarnau
Directora de tesis

Las rodopsinas son fotosistemas muy abundantes en distintos ambientes acuáticos con el potencial de capturar gran cantidad de energía solar en la superficie del agua. Más del 75% de los genomas del bacterioplancton contiene genes para sintetizar rodopsinas, convirtiéndose en el fotosistema más abundante en el mar. Sin embargo, se conoce poco sobre las diferentes estrategias metabólicas y fisiológicas de los distintos organismos con rodopsinas, por lo que su impacto ecológico en los distintos ambientes no es claro. A su vez, para caracterizar funciones bacterianas como la fototrofia a través de rodopsinas, es necesario estudiar la fisiología de bacterias aisladas en cultivos puros, es decir, cultivos que contengan una sola cepa bacteriana. Por lo que el desarrollo de dichas colecciones, es indispensable para entender mejor la importancia de estos mecanismos de fototrofia tan abundantes en ambientes acuáticos. Para avanzar esta área de investigación, en este trabajo se identificaron y obtuvieron nuevos microorganismos de estudio. En concreto: (i) se estableció una nueva colección de bacterias en cultivo puro aisladas de la Bahía Todos Santos y se amplió el repertorio de colecciones existentes provenientes del Muelle de Scripps, San Diego) (ii) se identificó la presencia de genes de rodopsina en genomas de bacterias depositadas en bibliotecas genómicas. Examinando en el laboratorio la presencia del pigmento de captura de luz en rodopsinas (retinal) en estas colecciones de cultivos, se identificaron ocho cepas productoras de rodopsinas, las cuales pertenecen a los géneros *Vibro*, *Morganella*, *Stenotrophomonas* y *Stakelama*. El genoma completo de la cepa *Stakelama pacifica* (BTS-27) fue secuenciado, y representa la primera evidencia de presencia de genes de rodopsinas de tipo sensorial en bacterias pertenecientes al grupo Alphaproteobacteria. Por otra parte, se determinó que entre las bacterias provenientes de ambientes acuáticos disponibles en las bases de datos: (i) existe una mayor incidencia de bacterias con genes de rodopsinas en los ambientes marinos, (ii) las proteorodopsinas son el subtipo de rodopsina más abundante, (iii) las rodopsinas predominan en grupos como Proteobacteria, Bacteroidetes y Actinobacteria, (iv) los genomas de bacterias con genes de rodopsinas son significativamente más pequeños que los de otras bacterias que no los contienen. Este trabajo amplía significativamente la disponibilidad de bacterias de distintos grupos taxonómicos y ambientes que podrán ser caracterizados fisiológicamente en estudios futuros.

Palabras clave: Proteorodopsina, Fototrofia, Bacterias marinas, Bacterioplancton

Abstract of the thesis presented by **Jaime Abdiel Lázaro García** as a partial requirement to obtain the Masters degree of Science in Marine Ecology.

Identification of rhodopsin-producing culturable photoheterotrophic bacteria in the Southern California Bight and in global genomic databases

Abstract approved by:

Dra. Laura Gómez Consarnau
Thesis Director

Rhodopsins are photosystems found to be abundant and widespread in different aquatic environments, with the potential to capture large amounts of solar energy in the surface ocean. More than 75% of bacterioplankton genomes contain genes to synthesize rhodopsins, making it the most abundant photosystem in the sea. However, little is known about the different metabolic and physiological strategies of the different microorganisms with rhodopsins, so their ecological role in the different environments is still unclear. In turn, it is only possible to characterize the physiology of rhodopsin-containing bacteria if they are isolated in culture, so establishing collections of isolates in pure culture is essential to better understand the ecology of such abundant light-dependent metabolism. To advance this area of research, in this work new bacteria strains were identified and isolated in culture. Specifically: (i) a new collection of bacteria isolated in pure culture was established in the Todos Santos Bay region, and other existing collections from the Scripps Pier, San Diego were examined (ii) rhodopsin genes were identified in genomes of bacteria deposited in genomic libraries of different aquatic systems. Examining the new culture collections for the Southern California Bight in the laboratory, eight rhodopsin-positive strains were identified, which belong to the genera *Vibrio*, *Morganella* and *Stakelama*. We further sequenced the genome of one of these positive strains *Stakelama pacifica*. (BTS27) and identified its rhodopsin gene, which represents the first evidence of the presence of sensory rhodopsins in groups of alpha proteobacteria. On the other hand, through the analysis of global genomic databases, it was determined that the environments with the highest incidence of rhodopsins were marine, and that proteorhodopsin is the most abundant rhodopsin subtype, predominant in groups such as Proteobacteria, Bacteroidetes, and Actinobacteria. Another important finding was that the genomes of bacteria with rhodopsin genes are significantly smaller than those of other bacteria that do not contain this function. Thus, this work broadens the spectrum of bacteria available in culture from different taxonomic groups and environments that can be characterized physiologically in future studies.

Keywords: Proteorhodopsin, Phototrophy, Marine bacteria, Bacterioplankton

Dedicatoria

Quiero dedicar esta tesis muy especialmente a todas aquellas personas que han estado involucradas en mi formación académica y desde luego personal, desde mis profesores de educación básica, compañeros de trabajo, familiares y amigos, hasta investigadores y profesores en mi educación superior; que de alguna manera u otra me han apoyado, dirigido y motivado a desarrollarme y enamorarme de las ciencias biológicas.

Agradecimientos

Quiero expresar mi agradecimiento al CICESE, que me permitió desarrollar profesionalmente al realizar mis estudios de posgrado y al CONACyT por la beca otorgada (CVU 899428).

Muy especialmente quiero decir ¡GRACIAS! A todas las personas que hicieron posible esta maestría:

Principalmente a mi directora Dra. Laura Gómez-Consarnau, por inducirme aún más en este campo tan interesante que es la microbiología, por darme la oportunidad de realizar esta tesis en su laboratorio y compartirme un poco de su enorme conocimiento y experiencia. Admiro mucho la entrega y la paciencia que pone en su trabajo y especialmente el apoyo que me dió en todo momento, sin importar las circunstancias, ¡espero entrañablemente volver a coincidir con usted tanto profesional como personalmente!

A los integrantes de mi comité la Dra. Olga Callejas, Dra. Asunción Lago, Dr. Jose Sandoval y Dr. Ernesto García; quienes me enseñaron, apoyaron y aconsejaron durante el desarrollo de esta tesis. ¡Muchas gracias por permitirme trabajar en sus laboratorios y hacerme sentir muy cómodo!

A mis compañeros dentro y fuera de los laboratorios que me apoyaron e hicieron de mi estancia una experiencia inolvidable. ¡Gracias Yamne, Gustavo, Babak Estefany, Daniel, Alexis, Salomé, etc.!

A todas las personas que indirectamente contribuyeron al desarrollo de esta tesis: secretarias, intendentes, técnicos, tripulación de embarcaciones, etc.

E invaluablemente gracias a mis padres y mi hermana quienes me han apoyado incondicionalmente y me han motivado a ser una mejor persona.

A todos ustedes, ¡Gracias por tanto!

Tabla de contenido

Resumen en español	ii
Resumen en inglés	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Lista de figuras	viii
Lista de tablas	xii
Capítulo 1. Introducción	1
1.1 Importancia del bacterioplancton en el ciclo del carbono.....	1
1.2 Fototrofía en el mar	1
1.3 Antecedentes	3
1.3.1. Familia de las rodopsinas	3
1.3.2. Proteorodopsinas y sus alcances.....	4
1.3.3 Potencial de estudio del Sistema de la Corriente de California	5
1.4 Justificación	5
1.5 Objetivos	6
1.5.1. Objetivo general.....	6
1.5.2. Objetivos específicos.....	6
Capítulo 2. Métodos	7
2.1. Aislamiento e identificación de cepas bacterianas con rodopsinas.....	7
2.1.1. Muestreo de agua de mar	7
2.1.2. Establecimiento de la colección de cultivos de bacterias con rodopsinas.....	8
2.1.3. Siembra y aislamiento de bacterias en cultivo puro	9
2.1.4. Obtención de colección de aislados.....	9
2.1.5. Identificación de bacterias productoras de rodopsinas mediante detección del pigmento retinal	10
2.1.6. Identificación taxonómica	10
2.1.7. Secuenciación del genoma completo.....	11
2.2. Análisis de genomas de bacterias aisladas de ambientes acuáticos que contienen genes de rodopsina y están disponibles en bases de datos genómicas.....	13
2.2.1. Identificación de diferentes genes de rodopsina en genomas de bacterias aisladas de ambientes acuáticos.....	13
2.2.2. Análisis estadísticos.....	14

Capítulo 3. Resultados	15
3.1. Obtención e identificación de cepas bacterianas productoras de rodopsina.....	15
3.1.1 Análisis Filogenético	15
3.1.2. Análisis de genomas de bacterias productoras de rodopsinas en BTS	18
3.2. Presencia de genes de rodopsina en genomas bacterianos de distintos de grupos taxonómicos y ambientes acuáticos depositados en la base de datos genómica del IMG.....	19
3.2.1. Patrones de distribución de genes de rodopsina en genomas de bacterias acuáticas.....	19
3.2.2. Patrones de distribución de genes de rodopsina en genomas de los principales grupos taxonómicos bacterianos	25
Capítulo 4. Discusión	46
4.1 Identificación de bacterias productoras de rodopsina aisladas en cultivo	46
4.2 Identificación de patrones de distribución de genes de rodopsina en genomas de distintos grupos taxonómicos y ambientes acuáticos	48
Capítulo 5. Conclusiones	51
5.1 Perspectivas	51
Literatura citada	53
Anexos	58

Lista de figuras

- Figura 1.** Estructura general de las rodopsinas, conformadas por una opsina, proteína transmembranal compuesta por siete hélices alfa. A su vez, esta se une covalentemente a el cromóforo retinal que capta la luz de longitud de onda entre los 490 y los 530 nm, provocando así un cambio estructural en la proteína, de isomerización trans a cis, bombeando un protón por cada fotón que incide en ella (en el caso de las bombas de protones), del interior hacia el exterior de la membrana. (Tomado de Pinhassi et al., 2016).....2
- Figura 2.** Sistema de la Corriente de California. Líneas en azul indican corrientes de agua fría, líneas en rojo indican corrientes de agua templada. Puntos en amarillo indican sitios de muestreo en este trabajo.....7
- Figura 3.** Transecto seguido por la embarcación “Rigel” para el muestreo en la Bahía Todos Santos BTS, los puntos rojos indican las estaciones de muestreo de agua de mar.8
- Figura 4.** Procedimiento seguido para la obtención e identificación de bacterias sintetizadoras de rodopsinas.12
- Figura 5.** Árbol filogenético del gen parcial de 16S rRNA (secuenciadas con el primer 1492R) con las secuencias confirmadas como sintetizadoras de rodopsinas. Las secuencias con mayor porcentaje de identidad del NCBI según el BLASTn están indicadas con los puntos en gris. El punto amarillo indica presencia de PR, ya sea determinada en la literatura o en este trabajo a través de la detección retinal en los aislados en cultivo. El punto rojo indica la secuencia del aislado positivo confirmado. Líneas en azul indican el *phylum* Proteobacteria, línea azul oscuro indica clase Gammaproteobacteria, línea azul claro indica clase Alphaproteobacteria. Línea verde indica *phylum* Bacteroidetes. Longitud total del alineamiento 447 bp. El valor de *bootstrap* en nodos indica porcentaje de identidad basado en distancias genéticas, y la escala las sustituciones por sitio.17
- Figura 6.** Porcentaje de genomas de bacterias aisladas de ambientes acuáticos disponibles en la base de datos genómica de IMG (<https://img.jgi.doe.gov/cgi-bin/m/main.cgi>). Tono amarillo indica el porcentaje de genomas con genes de rodopsina.....19
- Figura 7.** Porcentajes de genomas con función de rodopsina en cada phylum. Los tres phyla mejor representados fueron Proteobacteria (verde), Bacteroidetes (azul) y Actinobacteria (anaranjado).20
- Figura 8.** Porcentaje de genomas con función de rodopsina en cada ambiente acuático. Los sistemas marinos representan el ambiente con mayor porcentaje de genomas con rodopsina (azul). ..20
- Figura 9.** Porcentaje de genomas con y sin genes de rodopsina en cada phylum. Los números en las barras indican el número de genomas en cada grupo taxonómico.21
- Figura 10.** Porcentajes de genomas con genes de rodopsina por cada phylum en los diferentes ambientes acuáticos. Los números en las barras indican el número de genomas. Los porcentajes de genomas con función de rodopsina de los phyla Proteobacteria y Bacteroidetes son más abundantes en ambientes marinos (azul). Los porcentajes de genomas con función de

- rodopsina en el phylum Actinobacteria son más abundantes en ambientes de hielo (amarillo).
.....22
- Figura 11.** Porcentaje de genomas con genes de los diferentes tipos de rodopsinas. Los genes de PR tienen mayor incidencia en los genomas de bacterias depositados en la base de datos del IMG (amarillo).....23
- Figura 12.** Porcentaje de genes de los diferentes tipos de rodopsinas presentes en los ambientes acuáticos. Los números sobre las barras indican la cantidad de genomas con cada tipo de gen de rodopsina. Los genes de PR son más abundantes en genomas de bacterias aisladas de ambientes marinos (azul). Los genes de XnRh son más abundantes en genomas de bacterias aisladas de ambientes de hielo (amarillo) y ambientes de agua dulce (verde).23
- Figura 13.** Gráfico de Whisker, tamaño de genomas con y sin genes de rodopsina. Los genomas que contienen genes que codifican rodopsinas son significativamente más pequeños que los genomas que no los contienen.....24
- Figura 14.** Porcentaje de genomas bacterianos pertenecientes al phylum Proteobacteria. Verde indica el porcentaje de genomas con función de rodopsinas.25
- Figura 15.** Clases del phylum Proteobacteria aisladas de medios acuáticos. Las barras verdes indican el porcentaje de genomas con genes de rodopsina en cada clase, los números en las barras indican la cantidad de genomas hallados en cada grupo.....26
- Figura 16.** Porcentaje de genomas de bacterias del phylum Proteobacteria en cada ambiente acuático disponibles en la base de datos IMG. Las barras verdes indican el porcentaje de genomas con genes de rodopsina, los números sobre las barras indican el número total de genomas en la base de datos para cada grupo.....27
- Figura 17.** Porcentaje de los diferentes genes de rodopsina presentes en genomas del phylum Proteobacteria aisladas de ambientes acuáticos. Los genes de PR son el tipo de gen predominante en genomas de este grupo con el 75% (amarillo).28
- Figura 18.** Porcentajes de genes de los diferentes tipos de rodopsinas en genomas del phylum Proteobacteria por cada tipo de ambiente acuático. Los genes de PR son más abundantes en genomas bacterias marinas (azul), mientras que los genes de XnRh son más abundantes en genomas de bacterias aisladas de ambientes de agua dulce (verde).28
- Figura 19.** Porcentajes de genomas con genes de rodopsina en clases del phylum Proteobacteria en cada ambiente acuático. La mayoría de los genomas con genes de rodopsina pertenecen a los grupos Alphaproteobacteria (guinda) y Gammaproteobacteria (azul) en todos los ambientes acuáticos.
.....29
- Figura 20.** Gráfico de Whisker, tamaño de genomas del phylum Proteobacteria con y sin genes de rodopsina. Los genomas de este grupo que contienen genes que codifican rodopsinas son significativamente más pequeños que los genomas que no las contienen.30

- Figura 21.** Porcentaje de genomas de con genes de rodopsinas en órdenes de la clase Alphaproteobacteria en distintos ambientes acuáticos. Los números en las barras indican el número de genomas identificado en cada grupo.31
- Figura 22.** Porcentaje genomas con genes de rodopsina dentro de los distintos órdenes de la clase Gammaproteobacteria en cada ambiente. Los números en las barras indican el número de genomas identificado en cada grupo.32
- Figura 23.** Porcentaje de genomas del phylum Bacteroidetes aislados en ambientes acuáticos. Tono azul indica porcentaje de genomas con genes de rodopsina.33
- Figura 24.** Porcentaje de genomas de órdenes del phylum Bacteroidetes aisladas de medios acuáticos. Las barras azules indican el porcentaje de genomas con genes de rodopsina en cada orden, los números en las barras indican la cantidad de genomas identificados en cada grupo.34
- Figura 25.** Porcentaje de genomas con genes de rodopsina del pylum Bacteroidetes en cada ambiente acuático. Las barras azules indican el porcentaje de genomas con genes de rodopsina, los números sobre las barras indican la cantidad de genomas en cada grupo.....35
- Figura 26.** Porcentaje de los diferentes genes de rodopsina en genomas del phylum Bacteroidetes aisladas de ambientes acuáticos. Las PR son el tipo de rodopsina predominante en genomas de este grupo (amarillo).35
- Figura 27.** Porcentajes de los distintos genes de rodopsina en genomas del phylum Bacteroidetes en cada tipo de ambiente acuático.....36
- Figura 28.** Porcentajes de genomas con genes de rodopsina en órdenes del phylum Bacteroidetes en cada ambiente acuático. Flavobacteriales (guinda) predomina en ambientes marinos e hipersalinos. Cytophagales (azul) predomina en ambientes de agua dulce.....37
- Figura 29.** Gráfico de Whisker, tamaño de genomas del phylum Bacteroidetes con rodopsinas y sin rodopsinas. El tamaño de los genomas de Bacteroidetes que contienen genes que codifican rodopsinas no es estadísticamente diferente al de los genomas que no los contienen.....38
- Figura 30.** Porcentaje de genomas del phylum Actinobacteria aislados de ambientes acuáticos. Tono anaranjado indica porcentaje de genomas con genes de rodopsina.39
- Figura 31.** Porcentajes de genomas en órdenes del phylum Actinobacteria aislados de medios acuáticos. Las barras anaranjadas indican el porcentaje de genomas con genes de rodopsina en cada orden, los números en las barras indican la cantidad de genomas identificados en cada grupo con esta función.....40
- Figura 32.** Porcentaje de genomas con genes de rodopsina en el phylum Actinobacteria en cada ambiente acuático. Las barras anaranjadas indican el porcentaje de genomas con genes de rodopsina, los números sobre las barras indican la cantidad de genomas en cada grupo.....41
- Figura 33.** Porcentaje de los diferentes genes de rodopsina en genomas de bacterias del phylum Actinobacteria aisladas de ambientes acuáticos. Las XnRh (anaranjado) son el tipo de gen de rodopsina predominante en genomas de Actinobacteria.....42

- Figura 34.** Porcentajes de los diferentes genes de rodopsina en genomas del phylum Actinobacteria por cada tipo de ambiente acuático. Los genes de XnRh son abundantes en ambientes de hielo (amarillo) y ambientes de agua dulce (verde).42
- Figura 35.** Porcentajes de genomas con genes de rodopsina en órdenes del phylum Actinobacteria en cada ambiente acuático. El número en las barras indica la cantidad de genomas de cada grupo. Micromonosporales (guinda) predomina en ambientes marinos e hipersalinos. Micrococcales (azul) predomina en ambientes de hielo y de agua dulce.43
- Figura 36.** Gráfico de Whisker del tamaño de genomas del phylum Actinobacteria con genes de rodopsina y sin dichos genes. Los genomas que contienen genes que codifican rodopsinas son significativamente más pequeños que los genomas que no las contienen.44
- Figura 37.** Aislados productores de rodopsinas en BTS65

Lista de tablas

Tabla 1 Datos de aislados en los que se detectó retinal. Lectura con LC-MS retinal con concentración en (nM) NC indica que tienen concentración de retinal por debajo del límite de detección (0.5 nM), no cuantificable.	15
Tabla 2. Características de genomas de bacterias en cultivo que poseen rodopsinas y de las que existen estudios de fisiología, disponibles en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ . Gris indica aislado confirmado en nuestra colección de BTS.	18
Tabla 3. Descripción de aislados de la colección obtenida en Bahía Todos Santos.....	58
Tabla 4. Datos de secuencias obtenidas en los sitios de muestreo con primer 1492R. Gris indica secuencias confirmadas a rodopsinas mediante LC-MS	64
Tabla 5. Porcentaje y número de genomas bacterianos aislados de ambientes acuáticos que no tienen rodopsinas por phylum.....	66
Tabla 6. Número de genomas por phylum con genes de rodopsina en la base de datos de IMG.	66
Tabla 7. Resultados del análisis de clasificación de tipo de rodopsina utilizando el programa Lucifer, los números indican la presencia de diferentes rodopsinas en ese genoma.	67
Tabla 8. Características de genomas con y sin genes de rodopsina. Se identificaron 235 genomas con genes de rodopsinas en la base de datos genómica del IMG. La media y la desviación estándar del tamaño de los genomas se obtuvo utilizando el programa Statistica versión 7	73
Tabla 9. Características de genomas con y sin genes de rodopsina. Se identificaron 87 genomas de Proteobacteria con genes de rodopsinas en la base de datos genómica del IMG. La media y la desviación estándar del tamaño de los genomas se obtuvo utilizando el programa Statistica versión 7.	74
Tabla 10. Características de genomas con y sin genes de rodopsina. Se identificaron 68 genomas de Bacteroidetes con genes de rodopsinas en la base de datos genómica del IMG. La media y la desviación estándar del tamaño de los genomas se obtuvo utilizando el programa Statistica versión 7.	74
Tabla 11. Características de genomas con y sin genes de rodopsina. Se identificaron 55 genomas de Actinobacteria con genes de rodopsinas en la base de datos genómica del IMG. La media y la desviación estándar del tamaño de los genomas se obtuvo utilizando el programa Statistica versión 7.	74
Tabla 12. Secuencias utilizadas para construir el HMM de actinorodopsinas.....	75

Capítulo 1. Introducción

1.1 Importancia del bacterioplancton en el ciclo del carbono

Las cianobacterias y el fitoplancton eucariota unicelular realizan aproximadamente el 50% de la producción de carbono orgánico (producción primaria) de todo el planeta (Field et al., 1998). Las bacterias heterótrofas, por otro lado, tienen un papel central en la circulación y reciclamiento de carbono en los sistemas marinos. Son los principales organismos capaces de consumir carbono orgánico disuelto (COD) convirtiéndolo así en carbono orgánico particulado (COP) que sustenta la trama trófica en el mar (Ducklow y Kirchman, 2000). Estos microbios captan e incorporan a su biomasa el carbono orgánico disuelto (COD) proveniente del carbono orgánico inicialmente producido por el fitoplancton, y que llega a la fase disuelta desde distintos puntos de la red trófica (ej. lisis celular, pastoreo, etc) en un proceso conocido como “*Microbial Loop*” (Azam et al., 1983). Este proceso resulta crucial cuando se considera que los océanos representan una reserva de carbono inorgánico disuelto (CID) que es 3.5 veces mayor que la cantidad total de dióxido de carbono atmosférico (Gruber y Sarmiento, 2002). En las dos últimas décadas ha habido un gran avance en el conocimiento de los organismos y las funciones de plancton microbiano gracias a la convergencia de la microbiología, la ecología y la genómica a través de la Oceanografía microbiana (DeLong y Karl, 2005). Sin embargo, posiblemente debido a su gran diversidad y versatilidad funcional, hoy día se siguen describiendo propiedades fisiológicas del plancton bacteriano que se desconocían.

1.2 Fototrofia en el mar

La radiación solar es la fuente de energía más abundante y la superficie de los océanos es la zona con mayor área expuesta en todo el planeta. Por lo tanto, la mayor parte de los procesos biológicos como la fotosíntesis y la respiración tienen lugar en las aguas superficiales y subsuperficiales (Flemming y Wuertz, 2019). A su vez, los microbios marinos representan la forma de vida más abundante del planeta, por lo que su diversidad genómica, evolución y procesos ecológicos condicionan el flujo de energía en el mar, la composición de la atmósfera y las tendencias del clima global (DeLong y Karl, 2005).

La mayoría de los grupos microbianos marinos, realizan algún tipo de fototrofia, desde algas eucariotas y cianobacterias que realizan fotosíntesis a partir de clorofila, hasta proteobacterias que usan bacterioclorofilas para generar energía (Kolber et al., 2000; Shiba et al., 1979). Actualmente se conoce que la mayoría de bacterias heterótrofas marinas realizan fototrofia a través de un mecanismo distinto, usando

proteorodopsinas (PR) (Sabehi et al., 2004; Finkel et al., 2012), que son una familia de proteínas de membrana que actúan como bombas de protones dependientes de luz (Béjà et al., 2000).

Por lo que solo se conocen tres sistemas biológicos con mecanismos de generación de energía mediante la absorción de luz: uno se basa en la clorofila (fotosíntesis oxigénica), el segundo se basa en la bacterioclorofila (fotosíntesis anoxigénica) y el tercero se basa en rodopsinas que captan la luz a través del cromóforo retinal (Béjà et al., 2000; Flemming y Wuertz, 2019). Los fotosistemas basados en clorofila y bacterioclorofila son muy complejos y están compuestos por múltiples proteínas y pigmentos que forman centros de reacción y complejos cosechadores de luz (LHC) (Keren et al., 2002). La síntesis del pigmento clave, la clorofila/bacterioclorofila, requiere de al menos 16 pasos metabólicos con sus enzimas correspondientes, además de cofactores como el Mg^{2+} (Quinn et al., 1977).

Por su parte, las rodopsinas están conformadas por una sola proteína (una opsina) y un cromóforo (el retinal), el cual se sintetiza en un solo paso metabólico sin requerir cofactores (Figura 1) (Béjà et al., 2000; Pinhassi et al., 2016). El bajo costo metabólico y energético requerido para sintetizar fotosistemas de rodopsina, podría ser la razón por la cual este sea el mecanismo dependiente de luz más abundante en sistemas acuáticos (Finkel et al., 2012).

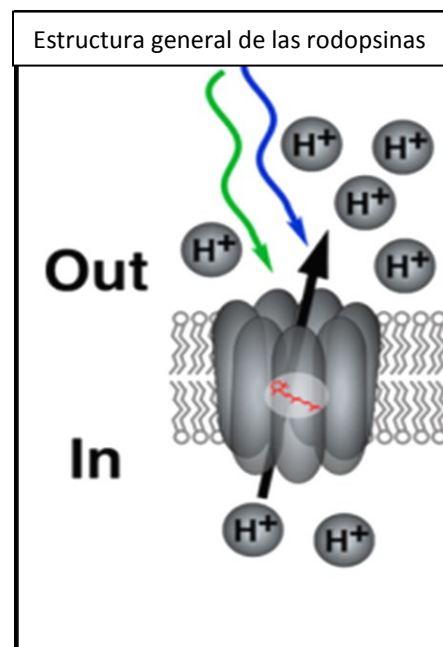


Figura 1. Estructura general de las rodopsinas, conformadas por una opsina, proteína transmembranal compuesta por siete hélices alfa. A su vez, esta se une covalentemente al cromóforo retinal que capta la luz de longitud de onda entre los 490 y los 530 nm, provocando así un cambio estructural en la proteína, de isomerización trans a cis, bombeando un protón por cada fotón que incide en ella (en el caso de las bombas de protones), del interior hacia el exterior de la membrana. (Tomado de Pinhassi et al., 2016).

1.3 Antecedentes

1.3.1. Familia de las rodopsinas

Los organismos que habitan en la superficie del océano han desarrollado diversas adaptaciones para aprovechar la incidencia de luz, así como de protección a la misma (Franklin et al., 2005). Los carotenoides inicialmente pueden haberse originado para reforzar la pared celular de las arqueas. Sin embargo, durante el tiempo evolutivo han sido retenidos para dar lugar a otras funciones celulares, particularmente de protección contra la radiación ultravioleta; dando lugar a diversas proteínas como fitocromos y rodopsinas sensoriales (Vershinin, 1999), generando procesos de fotomorfogénesis como fototaxis, ritmos diurnos y estacionales, regulación de síntesis de pigmentos y expresión de genes particulares, que pueden regular el comportamiento y la evolución de los organismos (Pinhassi et al., 2016).

Las rodopsinas son proteínas de membrana compuestas por siete hélices transmembrana (apoproteína) y un cromóforo retinal (Figura 1), producido a partir del betacaroteno (codificado por los genes *crtY*, *crtE*, *crtB*, *crtl* y *blh*) (Spudich et al., 2000). Según sus secuencias de aminoácidos, las rodopsinas se dividen en dos grandes grupos: tipo 1, de origen microbiano presentes en bacterias, arqueas y eucariotas; y tipo 2, receptores foto sensibles presentes solo en animales. Se ha establecido que no hay convergencia evolutiva de un ancestro común entre estos dos tipos de rodopsina, más bien hay una convergencia de estructuras similares (Ernst et al., 2013; Spudich et al., 2000).

En cuanto a las funciones que llevan a cabo, las rodopsinas de tipo 1 se pueden clasificar en: i) bombas de protones impulsadas por la luz como bacteriorodopsinas (Brh), proteorodopsinas (PR), heliorodopsinas (HeRh), xantorodopsinas (XnRh) y actinorodopsinas (AcRh) (Béjà et al., 2000; Oesterhelt y Stoeckenius, 1971; Pushkarev et al., 2018; Sharma et al., 2008), ii) bombas de iones Cl^- y Na^+ como las halorodopsinas, iii) canales, enzimas y sensores de luz (Bogomolni y Spudicht, 1982). Dentro de las rodopsinas que funcionan como bombas de protones, las PR son el subtipo más abundante en los sistemas marinos (Dubinsky et al., 2017; Sabehi et al., 2004) y el gradiente de protones hacia el exterior de la membrana citoplasmática generado a través del bombeo dependiente de luz puede ser utilizado para distintas funciones en cada organismo (Pinhassi et al., 2016).

1.3.2. Proteorodopsinas y sus alcances

Las PR son las rodopsinas más abundantes en el océano (Dubinsky et al., 2017; Sabehi et al., 2004; Sieradzki et al., 2018), cuyo descubrimiento causó gran controversia debido a que los genes que las codifican se identificaron en genomas de bacterias marinas consideradas estrictamente heterótrofas (Béjà et al., 2001). Estos genes están ampliamente distribuidos en aguas superficiales de todo el mundo, y en al menos el 80% de las células que conforman el bacterioplancton (Dubinsky et al., 2017; Sabehi et al., 2004), sugiriendo que la evolución ha favorecido a los organismos con el potencial heterótrofo aunado a fototrofia (Bielawski et al., 2004; Frigaard et al., 2006; Sabehi et al., 2004).

Algunos trabajos sugieren que la retención de genes de PR en los genomas de la mayoría de organismos del bacterioplancton, podría conferir ventajas competitivas (McCarren y DeLong, 2007). Esta hipótesis se ha confirmado mediante el descubrimiento de una gran variedad de funciones celulares atribuidas a las PR, por ejemplo la obtención de energía bioquímica mediante la síntesis de adenosin trifosfato (ATP) (Steindler et al., 2011), mayor transporte y asimilación de sustratos como la vitamina B1 (Gómez-Consarnau et al., 2016), incremento de las tasas de crecimiento en bajas concentraciones de carbono disponible (Gómez-Consarnau et al., 2007) y la capacidad de supervivencia bajo condiciones de limitación de nutrientes cuando estas bacterias están expuestas a la luz (Gómez-Consarnau et al., 2010). Estos hallazgos, revelan la necesidad de profundizar más el estudio de la fototrofia basada en rodopsinas y conocer sus posibles implicaciones en el ciclo del carbono oceánico y el flujo de energía en los sistemas marinos (Béjà et al., 2000).

Según los estudios realizados hasta el momento, la luz parece afectar de forma distinta a diferentes grupos de bacterias con PR. Un estudio con la cepa bacteriana *Candidatus Pelagibacter ubique* HTCC1062 en cultivo puro, no reportó diferencias significativas en su crecimiento cuando se expuso a condiciones de luz y oscuridad (Giovannoni et al., 2005). Sin embargo, se ha establecido que la generación de energía (ATP) producida por la fototrofia de PR en *Candidatus Pelagibacter ubique* puede aumentar hasta en un 30% cuando se exponen a la luz comparado con oscuridad (Steindler et al., 2011). Por otro lado, en *Dokdonia* sp. MED134 se ha demostrado experimentalmente que la luz estimula su crecimiento, particularmente a concentraciones bajas de materia orgánica y luz de longitud de onda verde (Gómez-Consarnau et al., 2007). Estos datos sugieren que este tipo de fototrofia podría repercutir en el flujo de energía en los océanos de dos maneras muy distintas: i) disminuyendo la tasa de respiración bacteriana, debido que estas bacterias son menos dependientes del DOC y obtienen parte de su energía a través la luz, o bien ii) aumentando las tasas de respiración al ampliar el acceso a diferentes moléculas de DOC a través de

transportadores activados durante la fototrofia, y por tanto incrementando los procesos catabólicos (Gómez-Consarnau et al., 2016; Steindler et al., 2011). En cualquiera de estos casos, el considerable aporte de energía conferido por PR en los sistemas menos productivos, sugiere que este tipo de fototrofia podría implicar ventajas para estas bacterias en un escenario de expansión de zonas oligotróficas, a causa de la estratificación de las aguas asociada al calentamiento global (Gómez-Consarnau et al., 2019).

1.3.3 Potencial de estudio del Sistema de la Corriente de California

El Sistema de la Corriente de California (SCC) es una zona con gran potencial para la búsqueda e identificación de grupos bacterianos que poseen rodopsinas, y que además están adaptados a regiones costeras productivas debido a sus características físicas y geográficas. Es considerado como una de las regiones más productivas en todo el mundo en cuanto a flujos de carbono, se encuentra localizado en la costa occidental de California, delimita con el gran giro oceánico del Pacífico Norte y es considerada como una de las regiones importantes de surgencia inducida por viento a nivel mundial (Lynn y Simpson, 1987). El SCC se extiende desde los 48°N hasta los 25°N aproximadamente, y está influenciado por la mezcla de aguas del Pacífico norte que penetran desde el oeste, y una contracorriente profunda que penetra por su límite austral acarreando agua del Pacífico ecuatorial hacia el norte (Lynn y Simpson, 1987) (Figura 2).

1.4 Justificación

Distintos análisis de datos metagenómicos en diversos ambientes acuáticos muestran que las rodopsinas microbianas están distribuidas ampliamente en la mayoría de grupos taxonómicos, sugiriendo ser un mecanismo de fototrofia muy abundante (Atamna-Ismaeel et al., 2008; Atamna-Ismaeel et al., 2012; Finkel et al., 2012; Giovannoni et al., 2005; Gómez-Consarnau et al., 2019; Koh et al., 2010; Maresca et al., 2018; Olson et al., 2018; G Sabehi et al., 2004; Venter et al., 2004). Sin embargo, es necesario esclarecer su funcionamiento asociado a la captura de energía solar, los beneficios metabólicos, su papel ecológico actual y la importancia que tienen en el balance energético de los ecosistemas. Solo es posible estudiar estos aspectos mediante el estudio de bacterias aisladas en cultivo (Carini, 2019), por lo que, contar con colecciones de cultivos de bacterias marinas con que sintetizan rodopsinas, contribuye al entendimiento del papel que tienen estas moléculas tan predominantes en los océanos. Por otra parte, muchos de los

estudios de caracterización fisiológica de bacterias aisladas en cultivo puro se han realizado con cepas provenientes de sistemas marinos considerados oligotróficos (como el mar Mediterráneo), por lo que hasta ahora, nuestra comprensión de la fototrofia asociada a rodopsinas en mares productivos no está clara.

Así mismo, las bases de datos genómicas cuentan con una gran cantidad de genomas que nos permiten ampliar la diversidad conocida de cepas con rodopsinas, y pueden ser analizadas en el laboratorio para estudios de caracterización fisiológico en el futuro.

1.5 Objetivos

1.5.1. Objetivo general

Ampliar el repertorio y la diversidad conocida de bacterias acuáticas con rodopsinas en cultivo que permitan el estudio de su fisiología, y a su vez, comprender mejor sus funciones en distintos ambientes acuáticos.

1.5.2. Objetivos específicos

- Identificar grupos de bacterias cultivables con potencial fotoheterótrofo mediante rodopsinas en aguas superficiales de dos localidades en la cuenca de Sur de California: i) Bahía Todos Santos, Ensenada y ii) Muelle de Scripps, San Diego.
- Identificar patrones de distribución de bacterias con genes de rodopsina en ambientes acuáticos, sus principales grupos taxonómicos y los tipos de rodopsina presentes en sus genomas.

Capítulo 2. Métodos

2.1. Aislamiento e identificación de cepas bacterianas con rodopsinas

2.1.1. Muestreo de agua de mar

Se realizó un muestreo de agua de mar en la Bahía de Todos Santos (BTS), Baja California el 11 de septiembre de 2019 y un muestreo en el muelle de Scripps, San Diego el 18 de agosto de 2019. En la BTS se colectaron muestras en tres estaciones: una costera ($31^{\circ} 44' N$, $116^{\circ} 42' W$), una oceánica ($31^{\circ} 51' N$, $116^{\circ} 57' W$) y una intermedia entre estos dos puntos ($31^{\circ} 53' N$, $116^{\circ} 45' W$) (Figura 3). Se colectaron muestras de agua en la microcapa (primeros 10 mm), superficie (0.5 metros) y en la profundidad del inicio de la termoclina (determinada a través de un CTD Son Tek CastAway portátil). Mientras que el muestreo en el muelle de Scripps se realizó solo en superficie (0.5 metros) (Figura 2).

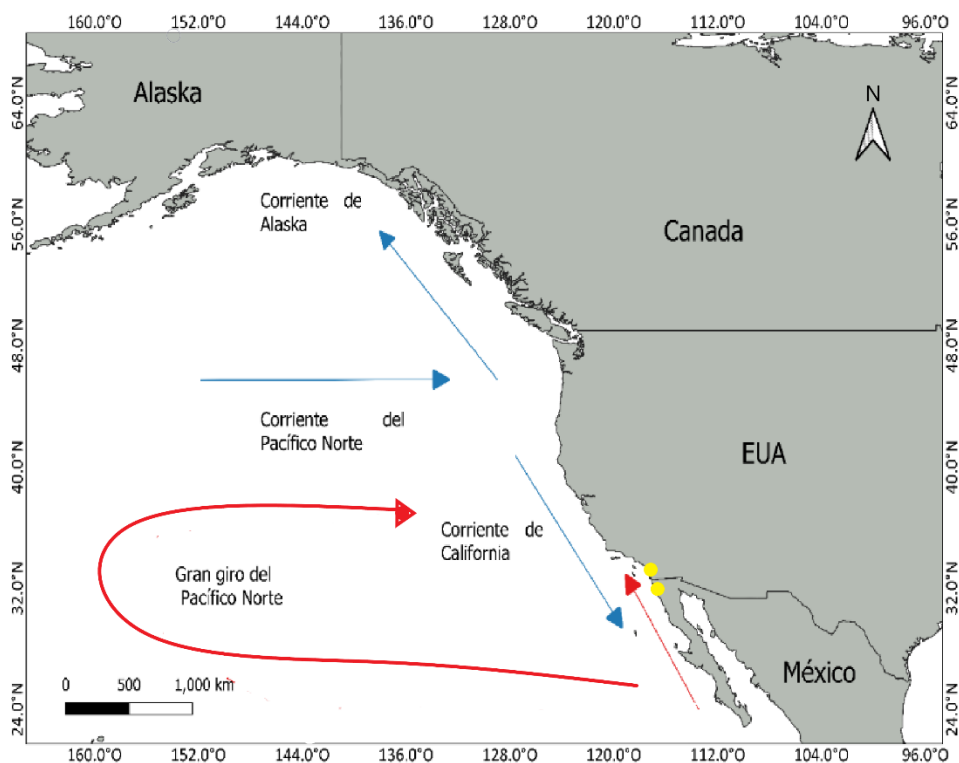


Figura 2. Sistema de la Corriente de California. Líneas en azul indican corrientes de agua fría, líneas en rojo indican corrientes de agua templada. Puntos en amarillo indican sitios de muestreo en este trabajo.

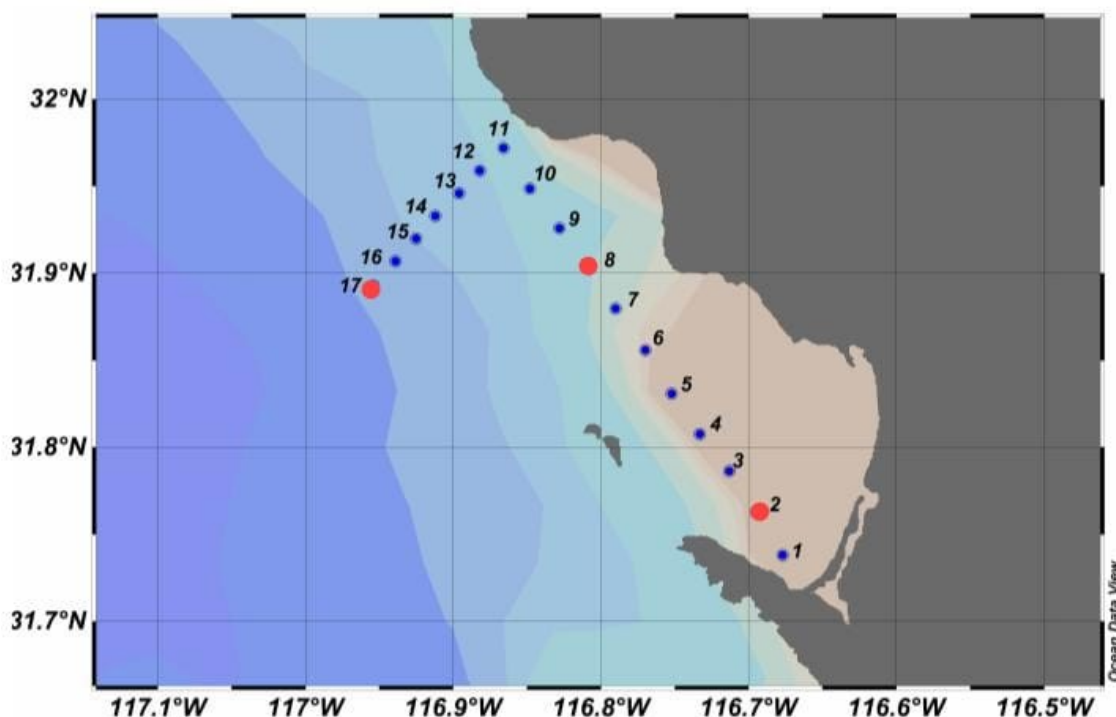


Figura 3. Transecto seguido por la embarcación “Rigel” para el muestreo en la Bahía Todos Santos BTS, los puntos rojos indican las estaciones de muestreo de agua de mar.

2.1.2. Establecimiento de la colección de cultivos de bacterias con rodopsinas

Preparación de medio: Se prepararon placas de Petri con medio ZoBell esterilizado en autoclave Market Forge modelo Sterilmatic a 125 °C y a 15 lb de presión, la composición del medio se preparó de la siguiente manera:

Para 1 L de medio agar ZoBell sólido:

- 5 g de peptona (DIFCO™)
- 1 g de extracto de levadura (DIFCO™)
- 15 g Bactoagar (DIFCO™)
- 750 ml de agua de mar filtrada a 0.2 μm y esterilizada
- 250 ml de agua Milli Q.

Para 1 L de medio ZoBell líquido:

- 5 g de peptona (DIFCO™)
- 1 g de extracto de levadura (DIFCO™)
- 750 ml de agua de mar filtrada a 0.2 μm y esterilizada
- 250 ml de agua Milli Q

2.1.3. Siembra y aislamiento de bacterias en cultivo puro

El mismo día del muestreo se sembraron por duplicado 100 μl de cada muestra de agua de mar en placas de Petri con medio agar ZoBell. Cada una se sembró a tres diluciones (muestra directa, 1:10 y 1:100), diluyendo con agua de mar esterilizada. Con el objetivo de aumentar la probabilidad de aislar bacterias fotoheterótrofas, las muestras de agua de mar natural se incubaron en condiciones de luz durante dos semanas, posteriormente se realizó una segunda siembra de cada muestra en las tres diluciones. Cada placa se incubó durante 2 semanas a temperatura ambiente bajo condiciones de luz continua ($180 \mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) utilizando una fuente de luz blanca artificial. Una vez que fueron visualmente identificables las colonias bacterianas, se tomaron fotografías de cada placa para generar un archivo y poder comparar la composición de las colonias con muestras posteriores.

Se aislaron aquellas colonias morfológicamente diferentes en cuanto a tamaño, color, textura y forma de la colonia (de cada estación). Para obtener cultivos puros de bacterias, cada una de estas colonias se sembró de manera individual en placas de agar ZoBell, donde se incubaron a temperatura ambiente durante dos semanas más.

2.1.4. Obtención de colección de aislados

Una vez descritas todas las colonias visualmente diferentes y aisladas en cultivo puro, se inocularon individualmente en medio líquido ZoBell. Cada aislado se sembró en 100 ml de medio, y se incubó bajo condiciones de luz y a temperatura ambiente durante una semana. Posteriormente, se tomaron entre 8-

10 ml de cultivo de cada aislado (por duplicado, uno para extracción de ADN y otro para pigmentos) y se centrifugaron a 12,000 RPM durante 10 minutos para concentrar su biomasa. Se decantó el sobrenadante, y después se suspendió el concentrado bacteriano en agua de mar esterilizada, y se incubaron durante 24 horas más en condiciones de luz para potencializar la síntesis de rodopsinas en un medio sin nutrientes adicionales. Después de las 24 horas de incubación, se concentraron nuevamente los cultivos a 12,000 RPM durante 10 minutos y se decantó el sobrenadante. Cada pastilla celular fue conservada a -20° C hasta su posterior extracción de ADN y pigmentos.

2.1.5. Identificación de bacterias productoras de rodopsinas mediante detección del pigmento retinal

Debido a que cada fotosistema de rodopsina contiene una molécula de retinal (Figura 1), la cuantificación de este cromóforo se puede utilizar como proxy para determinar la presencia de rodopsinas en cada bacteria aislada en cultivo. La presencia de retinal se determinó mediante la extracción de pigmentos con metanol de las pastillas bacterianas, posteriormente se hizo un análisis de cromatografía líquida espectrometría de masas (LC/MS) como se describe en Gómez-Consarnau *et al.* (2019).

2.1.6. Identificación taxonómica

Extracción de ADN: Una vez identificados los aislados positivos con rodopsinas mediante la detección de retinal, se extrajo el ADN genómico de los concentrados bacterianos de cada aislado, siguiendo el protocolo del kit DNeasy (Quiagen, Hilden, Germany).

Secuenciación del gen 16S y análisis taxonómico: El gen 16S rADN de los aislados bacterianos se amplificó mediante PCR utilizando los cebadores 27F y 1492R como en Lekunberri *et al.* (2014). Posteriormente se secuenciaron con la compañía *RetroGen Inc.* (San Diego) mediante secuenciación de Sanger. Una vez obtenidas las secuencias, se compararon en la base de datos de *GenBank* (NCBI) utilizando el algoritmo BLASTn para determinar su clasificación taxonómica.

Como referencia, para el análisis filogenético se consideraron las secuencias con mayor porcentaje de identidad a los aislados según BLASTn, además de otras secuencias de bacterias identificadas con

rodopsinas (Koh et al., 2010; Pinhassi et al., 2016). Los análisis filogenéticos se realizaron “curando” las secuencias, es decir, seleccionando solo aquellas regiones que presentaron una señal clara en cada posición de cada nucleótido; posteriormente, se alinearon todas las secuencias utilizando el algoritmo *Clustal W* de la paquetería *MEGA-X*, el cual permite la inserción de *gaps* y realiza múltiples iteraciones entre todas las secuencias, buscando así regiones conservadas que permitan clasificarlas en grandes grupos. Finalmente, con el objetivo de tener secuencias de regiones conservadas del mismo tamaño, cada secuencia fue cortada de los extremos hasta encontrar regiones que no tuvieran *gaps*. Posteriormente, se construyó un árbol filogenético a partir secuencias alineadas y cortadas, para ello, se utilizó el método de *Neighbor-Joining*, el cual permite establecer grandes grupos detectando diferencias mediante distancias euclidianas.

2.1.7. Secuenciación del genoma completo

Se realizó la secuenciación del genoma completo de la única cepa bacteriana confirmada como sintetizadora de rodopsinas mediante LC-MS (BTS 27). El ADN genómico de esta cepa bacteriana se extrajo de un concentrado bacteriano siguiendo el protocolo del kit *DNeasy* (Quiagen, Hilden, Germany). Posteriormente se cuantificó el ADN extraído con *nanodrop Thermo Scientific 2000*, y se secuenció el genoma completo con la compañía *Microbial Genome Sequencing Center* (<https://www.migscenter.com/>). El control de calidad de la secuencia genómica obtenida se realizó utilizando la herramienta *FastQC* y *Trimmomatic* (<http://www.usadellab.org/cms/?page=trimmomatic>), donde se analizaron datos como *phred score*, longitud de la secuencia, contenido de GC y eliminación de *primers* de baja calidad (ver glosario). Posteriormente, la secuencia genómica se ensambló mediante el programa *SPAdes* (<http://bioinf.spbau.ru/spades>), los *contigs* se anotaron mediante el software *Prokka* (<https://bio.tools/prokka>), y posteriormente el genoma completo se visualizó utilizando la plataforma de RAST (<https://rast.nmpdr.org/>).

Método de obtención y detección de cepas bacterianas sintetizadoras con rodopsina

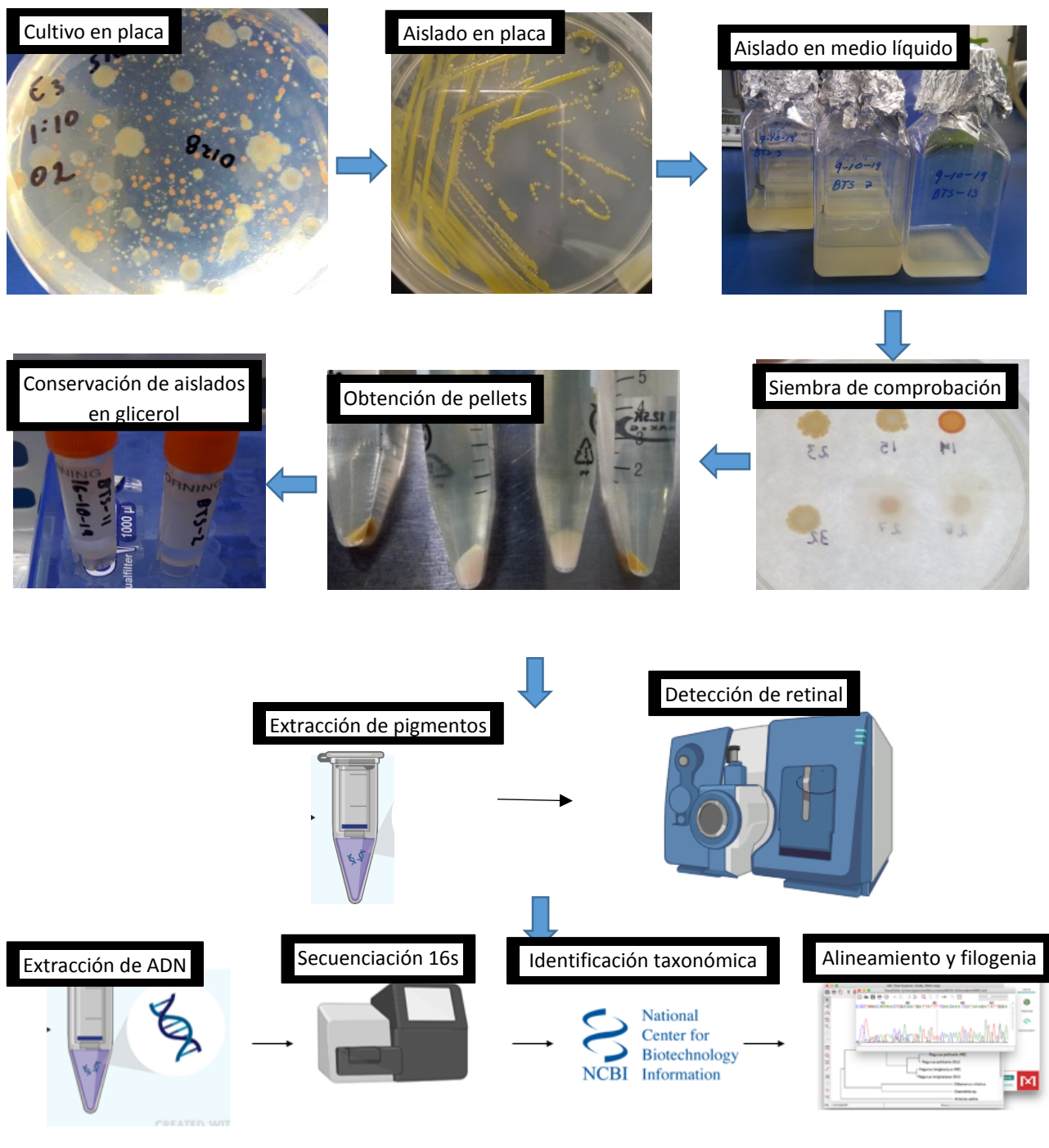


Figura 4. Procedimiento seguido para la obtención e identificación de bacterias sintetizadoras de rodopsinas.

2.2. Análisis de genomas de bacterias aisladas de ambientes acuáticos que contienen genes de rodopsina y están disponibles en bases de datos genómicas

Se realizó una búsqueda de todos los genomas de bacterias cultivadas aisladas en ambientes acuáticos, depositados en el Sistema Integrado de Genomas Microbianos (IMG, por sus siglas en inglés). Ésta es considerada como una de las bases de datos más completas actualmente para búsqueda de información genómica microbiana desarrollado por el *Join Genome Institute* de los Estados Unidos. Posteriormente, se hizo una búsqueda de genomas bacterianos que tuvieran los genes de rodopsina y que hayan sido obtenidos de muestras ambientales. La presencia de los genes (o función pFam) de rodopsina en estos genomas se identificó mediante el Pfam 01036, el cual es un número que se asigna a diferentes familias de proteínas basado en múltiples secuencias, que mediante modelos ocultos de Markov (HMM) se clasifican dentro de la misma familia. Estas dos bases de datos se combinaron utilizando la fórmula “buscar v” de la paquetería *Excel* 2016, y se seleccionaron solo los genomas con genes de rodopsinas que pertenecieran a ambientes acuáticos. Finalmente, se identificaron patrones entre la presencia de genes de rodopsina en los genomas de distintas bacterias mediante el Pfam, su clasificación taxonómica, ambiente de origen, tamaño del genoma y tipo de rodopsina asociada.

2.2.1. Identificación de diferentes genes de rodopsina en genomas de bacterias aisladas de ambientes acuáticos.

Lucifer es un programa perteneciente a la paquetería *Magic Cave* que permite detectar diferentes genes asociados al uso y aprovechamiento de la luz (disponible en https://github.com/Arkadiy-Garber/MagicCave?fbclid=IwAR2Nw_s5xscwcH3gcrnelVytheLJeHpKLXx2Ia18R6daUjZX_nOFr0zrlcQ). En este trabajo nos enfocamos únicamente en las funciones asociadas a genes de rodopsina. Basándose en modelos ocultos de Markov (HMM), *Lucifer* permite diferenciar distintos genes de rodopsinas como son: proteorodopsinas (PR), xantorodopsinas (XnRh), heliorodopsinas (HeRh) y bacteriorodopsinas (BacRh). Cabe mencionar que, dentro de las PR *Lucifer* permite la identificación de diferentes subgrupos basándose en la clasificación propuesta por Olson y colaboradores en 2018.

2.2.2. Análisis estadísticos

Para comparar y analizar el tamaño de los genomas se utilizó el software *R Studio*, en donde se realizaron las estadísticas básicas, pruebas de normalidad (Shapiro Wilk) y homocedasticidad (Bartlett test). Posteriormente, se realizaron pruebas paramétricas (t Student) y no paramétricas (U Mann Whitney) para identificar diferencias entre los tamaños de los genomas. Además, usando la paquetería *Statistica* versión 7 se obtuvieron los gráficos necesarios para observar los resultados obtenidos.

Capítulo 3. Resultados

3.1. Obtención e identificación de cepas bacterianas productoras de rodopsina

Se conformó una colección de 138 aislados pertenecientes a BTS (Tabla 3 en anexos) y 15 pertenecientes al Muelle de Scripps. Se evaluó la presencia de rodopsinas mediante LC-MS en 94 aislados, 79 de BTS y 15 del Muelle de Scripps. La presencia de retinal se detectó en ocho aislados (Tabla 1).

Estos ocho aislados pertenecen al *phylum* Proteobacteria, donde el género *Vibrio* fue el más abundante con cuatro aislados, seguido del género *Morganella* con dos aislados, un aislado perteneciente al género *Stenotrophomonas* y otro a *Stakelama*, según la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI). Debido a que algunos de los aislados identificados como productores de rodopsinas presentaron baja concentración de retinal en los concentrados celulares, se realizó una segunda prueba a los ocho aislados con rodopsinas, de los cuales solo se confirmó la presencia de este cromóforo en la cepa BTS 27. La presencia de rodopsinas en el resto de aislados positivos se evaluará en estudios posteriores de secuenciación genómica.

Cabe mencionar que solo se identificó la presencia de retinal en aislados provenientes de BTS, mientras que no se detectó este cromóforo en las 15 cepas pertenecientes al Muelle de Scripps en San Diego.

Tabla 1 Datos de aislados en los que se detectó retinal. Lectura con LC-MS retinal con concentración en (nM) NC indica que tienen concentración de retinal por debajo del límite de detección (0.5 nM), no cuantificable.

Aislado	1era lectura	2da lectura	Género
BTS 1	91.87		<i>Morganella</i>
BTS 4	394	NC	<i>Morganella</i>
BTS 5	NC		<i>Vibrio</i>
BTS 21	NC		<i>Vibrio</i>
BTS 25	1.3	NC	<i>Vibrio</i>
BTS 27	2.2	3.63	<i>Stakelama</i>
BTS 37	NC		<i>Stenotrophomonas</i>
BTS 41	NC		<i>Vibrio</i>

3.1.1 Análisis Filogenético

Para el análisis filogenético, se descartaron aquellos aislados cuyas secuencias parciales de 16S tuvieron un tamaño menor a los 400 pares de bases (bp) (tamaño que se tomó como mínimo para ser una secuencia

representativa), lo cual fue el caso de los aislados BTS-1, BTS- 21 y BTS-37. Después de curar las secuencias, alinearlas y cortarlas, se obtuvo un tamaño de alineamiento de 447 bp, a partir del cual se realizó un árbol filogenético. También se incluyeron como referencia las secuencias del gen 16S de los organismos con mayor porcentaje de identidad a dichos aislados (puntos en gris), y secuencias de 16S de otras bacterias marinas identificadas como productoras de PR en otros trabajos (puntos en amarillo) (Figura 5). En el árbol se distinguen dos grandes grupos, por un lado, se encuentra el *phylum* Proteobacteria (líneas azules), donde la mayoría pertenecen a la clase Gammaproteobacteria (azul oscuro), y por otro lado se encuentra el *phylum* Bacteroidetes (línea verde), donde el grupo más abundante es Flavobacteria.

La única cepa aislada confirmada como productora de rodopsinas en este estudio pertenece a la colección de BTS, BTS 27 (punto rojo), y se agrupa dentro de la clase Alphaproteobacteria. Este aislado se confirmó tanto cuantitativamente, a través de cuantificación de retinal mediante LC-MS, como genómicamente, a través de la identificación del gen de rodopsina mediante la secuenciación de su genoma completo. Además de esta cepa, destaca la identificación de una cepa sintetizadora de rodopsina perteneciente al género *Morganella* (BTS-4), el cual en caso de confirmarse, sería el primer reporte de bacterias de este género con capacidad fotoheterótrofa.

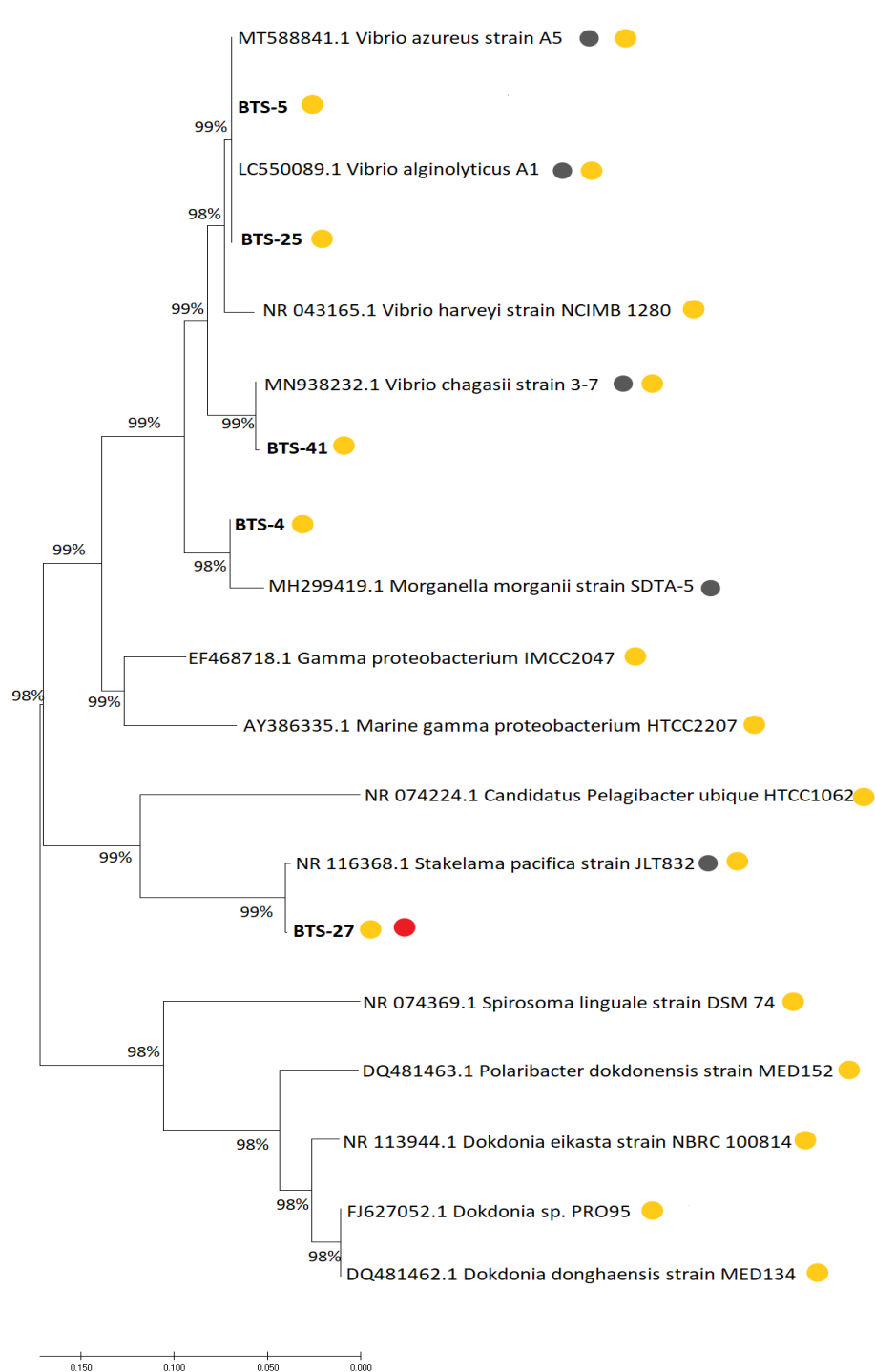


Figura 5. Árbol filogenético del gen parcial de 16S rRNA (secuenciadas con el primer 1492R) con las secuencias confirmadas como sintetizadoras de rodopsinas. Las secuencias con mayor porcentaje de identidad del NCBI según el BLASTn están indicadas con los puntos en gris. El punto amarillo indica presencia de PR, ya sea determinada en la literatura o en este trabajo a través de la detección retinal en los aislados en cultivo. El punto rojo indica la secuencia del aislado positivo confirmado. Líneas en azul indican el *phylum* Proteobacteria, línea azul oscuro indica clase Gammaproteobacteria, línea azul claro indica clase Alphaproteobacteria. Línea verde indica *phylum* Bacteroidetes. Longitud total del alineamiento 447 bp. El valor de *bootstrap* en nodos indica porcentaje de identidad basado en distancias genéticas, y la escala las sustituciones por sitio.

3.1.2. Análisis de genomas de bacterias productoras de rodopsinas en BTS

Como se explica en el apartado anterior, para evaluar la presencia de rodopsinas en las cepas bacterianas aisladas, se realizaron dos pruebas de cuantificación de retinal en los concentrados bacterianos. BTS 27 fue la única cepa para la que se confirmó la presencia de rodopsinas en las dos pruebas. A su vez, se secuenció el genoma completo de esta cepa, y se identificó el tipo de rodopsina presente, el tamaño del genoma, porcentaje de CG, número de genes y número de proteínas. En la Tabla 2 se muestran las características genómicas de BTS 27 y otras cepas bacterianas con rodopsina reportadas en otros estudios.

Tabla 2. Características de genomas de bacterias en cultivo que poseen rodopsinas y de las que existen estudios de fisiología, disponibles en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Gris indica aislado confirmado en nuestra colección de BTS.

Organismo	Tipo de rodopsina	Referencia de secuencia NCBI	Tamaño (Mb)	GC%	No. de proteínas	Número de genes	Referencia de estudio de fisiología
<i>Stakelama pacifica</i> BTS 27	SR		3.78	63%	3,661	3,709	Este estudio
<i>Psychroflexus torquis</i> ATCC 700755	PR	NC_018721.1	4.32	34.5	3,507	3,557	(Feng et al., 2013)
<i>Vibrio sp.</i> AND4	PR	NZ_ABGR00000000.	4.25	45.9	3,648	3,877	(Gómez-Consarnau et al., 2010)
<i>Candidatus Pelagibacter ubique</i> HTCC1062	PR	NC_007205	1.30	29.2	1,337	1,374	(Giovannoni, et al., 2005; Steindler et al., 2011)
<i>Dokdonia donghaensis</i> DSW-1	PR	NZ_CP015125.1	3.29	38.2	2,848	2,924	(Gómez-Consarnau et al., 2016)
<i>Dokdonia</i> MED134	PR	NZ_CP009301.1	3.30	38.2	2,857	2,912	(Gómez-Consarnau et al., 2007)
<i>Dokdonia</i> PRO95	NaRh, PR	NZ_CM001837.1	3.30	37.3	2,978	3,984	(Gómez-Consarnau et al., 2016)
<i>Polaribacter sp.</i> MED152	PR	NC_020830.1	2.96	30.6	2,615	2,660	(González et al., 2008)
gamma proteobacterium HTCC2207	PR	NZ_AAPI00000000.1	2.63	49.4	2,302	2,380	(Stingl et al., 2007)
<i>Vibrio campbelli</i> BAA-1116	PR	NC_009783	6.05	45.5	5,053	5,592	(Wang et al., 2012)
<i>Photobacterium angustum</i> S14	PR	NZ_AAOJ00000000.1	5.18	39.8	4,336	4,613	(Lauro et al., 2009)
<i>Nonlabens marinus</i> S1-08	PR, NaRh, HaRh	NZ_AP014548.1	2.91	39.7	2,604	2,647	(Yoshizawa et al., 2014)

3.2. Presencia de genes de rodopsina en genomas bacterianos de distintos de grupos taxonómicos y ambientes acuáticos depositados en la base de datos genómica del IMG.

3.2.1. Patrones de distribución de genes de rodopsina en genomas de bacterias acuáticas.

Se identificaron 3056 genomas de bacterias aisladas de ambientes acuáticos depositados en la base de datos del IMG; de los cuáles 235 (el 7.69%) contienen la función de rodopsina (Figura 6).

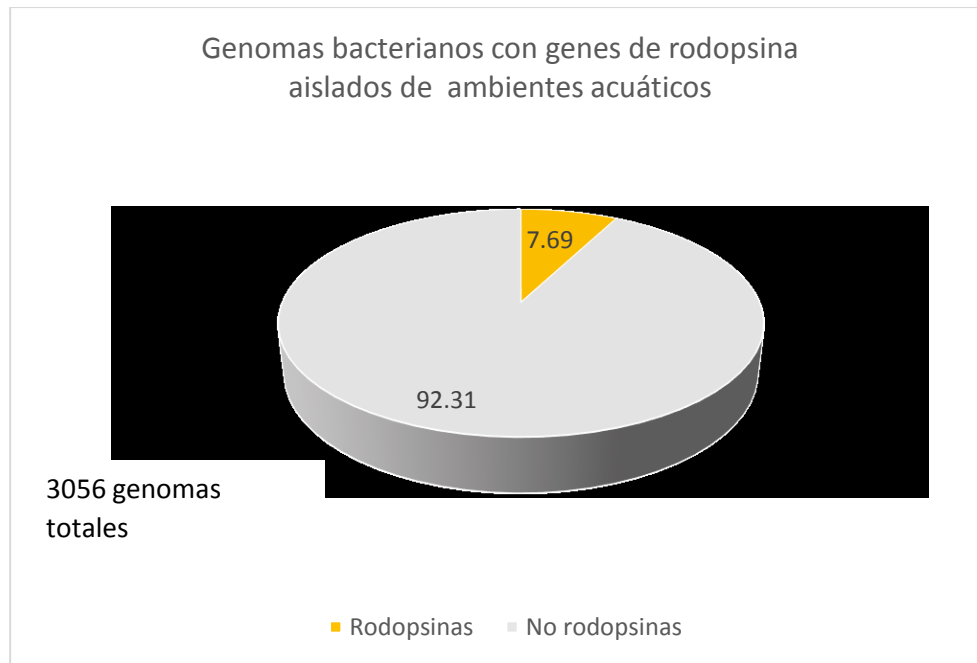


Figura 6. Porcentaje de genomas de bacterias aisladas de ambientes acuáticos disponibles en la base de datos genómica de IMG (<https://img.jgi.doe.gov/cgi-bin/m/main.cgi>). Tono amarillo indica el porcentaje de genomas con genes de rodopsina.

Porcentajes de genomas con función de rodopsina en cada *phylum*: Los 235 genomas con genes de rodopsina se distribuyen en siete *phyla*. Proteobacteria es el grupo con mayor número de genomas con esta función con el 31.7% de los genomas, seguido de Bacteroidetes con el 24.8% y en tercer lugar Actinobacteria con el 19.7% (Figura 7).

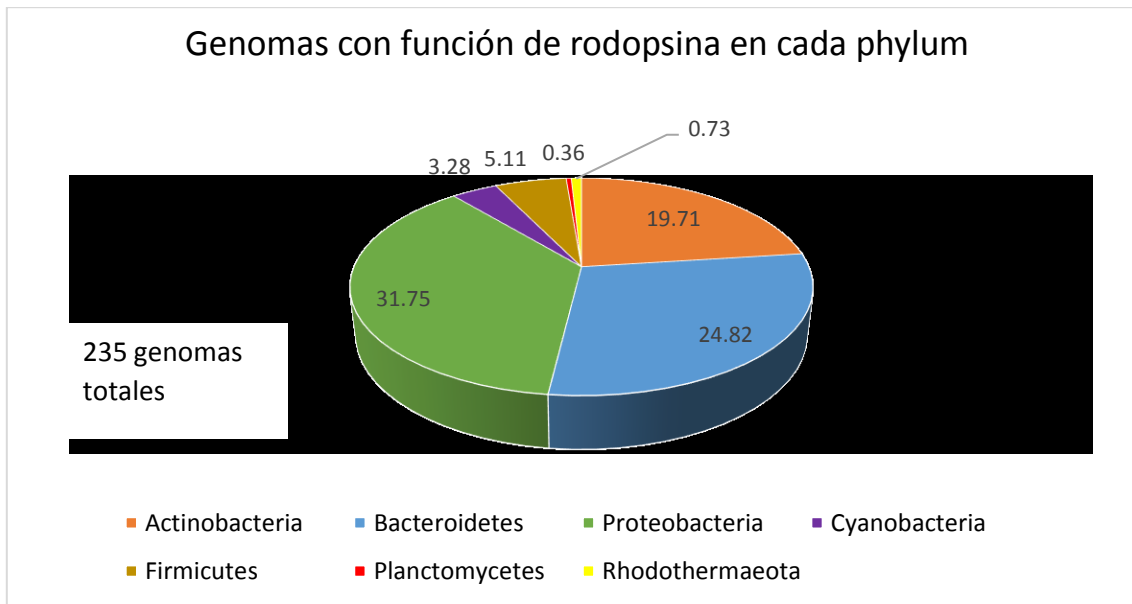


Figura 7. Porcentajes de genomas con función de rodopsina en cada *phylum*. Los tres *phyla* mejor representados fueron Proteobacteria (verde), Bacteroidetes (azul) y Actinobacteria (anaranjado).

Porcentajes de genomas con función de rodopsina en cada ambiente: El ambiente donde se identificó el mayor porcentaje de genomas con función de rodopsina es el marino con el 47% de los genomas, seguido de los ambientes de agua dulce con el 23% y en tercer lugar los ambientes de hielo con el 11.4% (Figura 8).

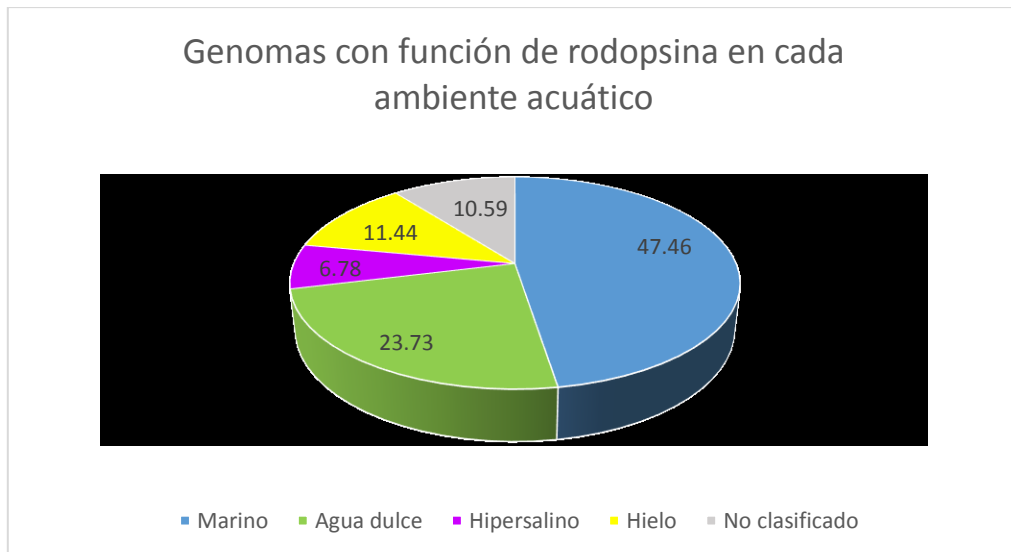


Figura 8. Porcentaje de genomas con función de rodopsina en cada ambiente acuático. Los sistemas marinos representan el ambiente con mayor porcentaje de genomas con rodopsina (azul).

Phyla con función de rodopsinas: De los siete grupos en los que se identificaron genomas con genes de rodopsina, los tres más abundantes son: 1) Proteobacteria con 1936 genomas, de los cuales solo el 4.4% (86 genomas) tienen dichos genes; 2) Actinobacteria con 278 genomas, de los cuales el 19.7% (55 genomas) tienen genes de rodopsina; y 3) Bacteroidetes con 273 genomas, de los cuales el 24.9% se identificó con genes de rodopsina (Figura 9 y Tabla 6 de anexos).

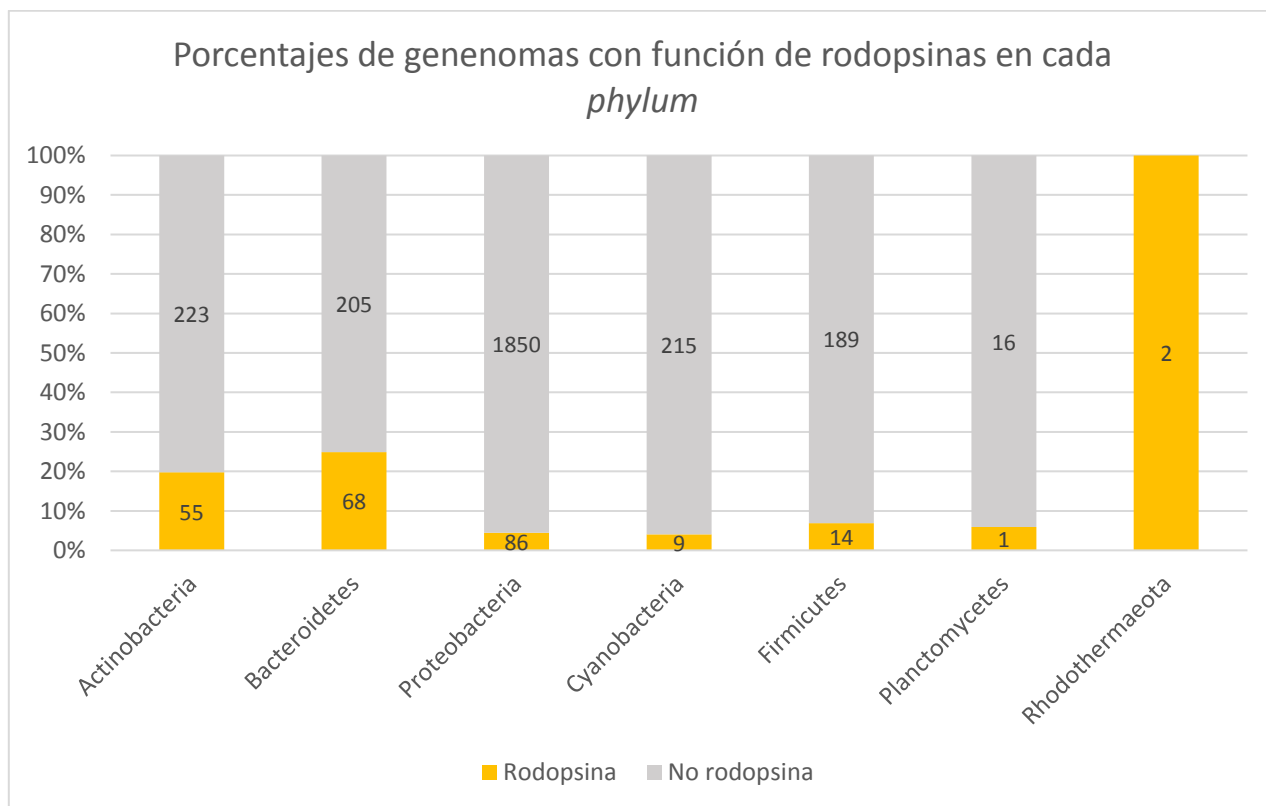


Figura 9. Porcentaje de genomas con y sin genes de rodopsina en cada *phylum*. Los números en las barras indican el número de genomas en cada grupo taxonómico.

Phyla con genes de rodopsina en cada ambiente acuático: La mayor parte de los genomas de bacterias de los *phyla* Proteobacteria y Bacteroidetes con genes de rodopsina fueron aislados ambientes marinos, con el 66.6% y 61.7% de los genomas respectivamente. Por su parte, genomas del *phylum* Actinobacteria con genes de rodopsina se identificaron en su mayoría en ambientes no salinos como son el ambiente de hielo (47.2%) y el agua dulce (30.9%) (Figura 10).

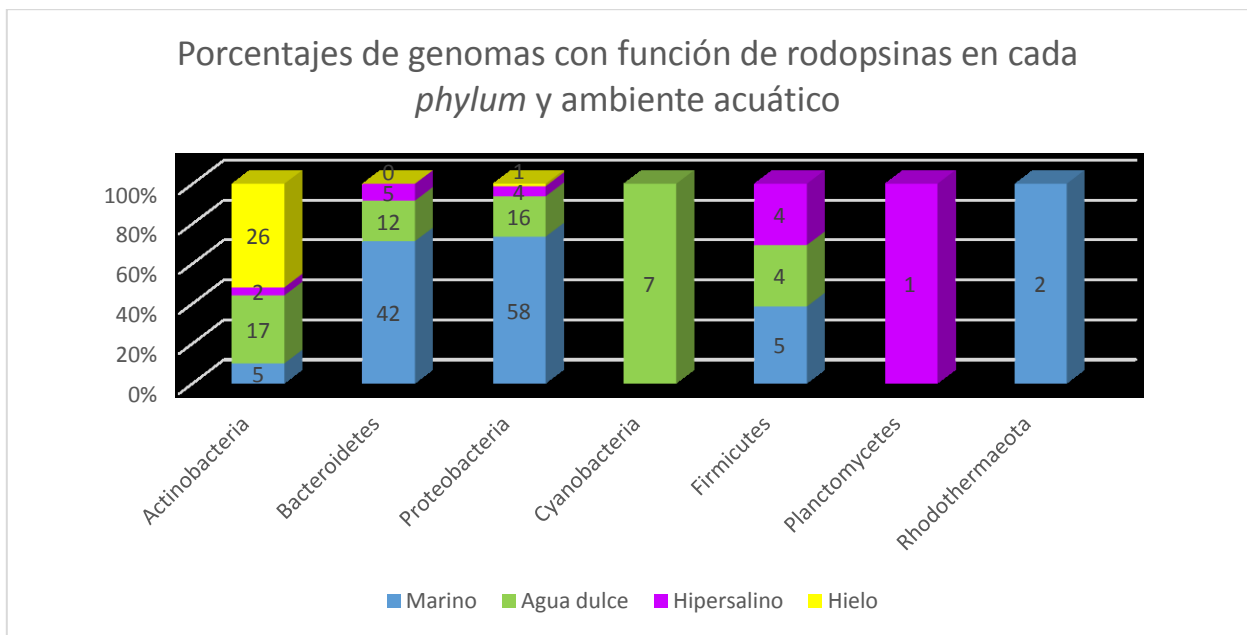


Figura 10. Porcentajes de genomas con genes de rodopsina por cada *phylum* en los diferentes ambientes acuáticos. Los números en las barras indican el número de genomas. Los porcentajes de genomas con función de rodopsina de los *phyla* Proteobacteria y Bacteroidetes son más abundantes en ambientes marinos (azul). Los porcentajes de genomas con función de rodopsina en el *phylum* Actinobacteria son más abundantes en ambientes de hielo (amarillo).

Porcentajes de los distintos genes de rodopsina: Basados en los modelos ocultos de Markov (HMM) implementados en el programa *Lucifer*, se lograron analizar 205 de los 235 genomas con genes de rodopsina, por lo que se pudo diferenciar entre cuatro tipos de rodopsinas: proteorodopsinas (PR), xantorodopsinas (XnRh), heliorodopsinas (HeRh) y bacteriorodopsinas (BacRh). Se identificó que el 70% de los genomas analizados contiene genes de PR, mientras que el 30% de los genomas contiene genes de XnRh. No se identificó la presencia de genes de heliorodopsinas ni de bacteriorodopsinas en ningún genoma (Figura 11). Cabe mencionar que *Lucifer* se basa en la clasificación propuesta por Olson y colaboradores en 2018 para la identificación de distintos genes de PR, y que algunos genomas presentaron más de un tipo de PR o incluso diferentes rodopsinas bajo esta clasificación (Tabla 7 anexos).

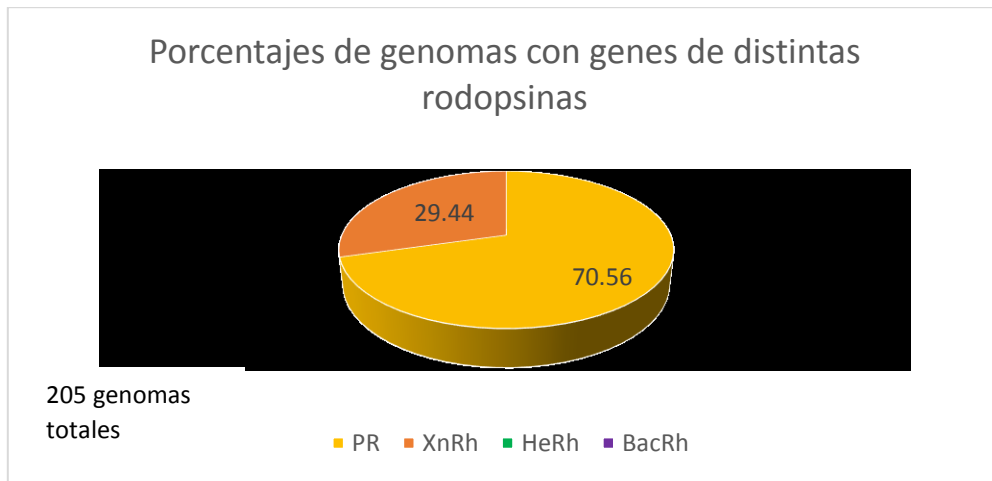


Figura 11. Porcentaje de genomas con genes de los diferentes tipos de rodopsinas. Los genes de PR tienen mayor incidencia en los genomas de bacterias depositados en la base de datos del IMG (amarillo).

Presencia de los distintos genes de rodopsina en cada ambiente acuático: Los genes que codifican PR son los más abundantes (excepto en ambientes de hielo), sobre todo en ambientes marinos. El 63% de los genomas con genes de PR se identificó en ambientes marinos, mientras que el 24% de estos genomas se identificaron en ambientes de agua dulce. Por su parte, los genes de XnRh son más abundantes en genomas de bacterias aisladas de ambientes no salinos como el hielo y el agua dulce, identificados con el 45% y el 38% de los genomas respectivamente (Figura 12).

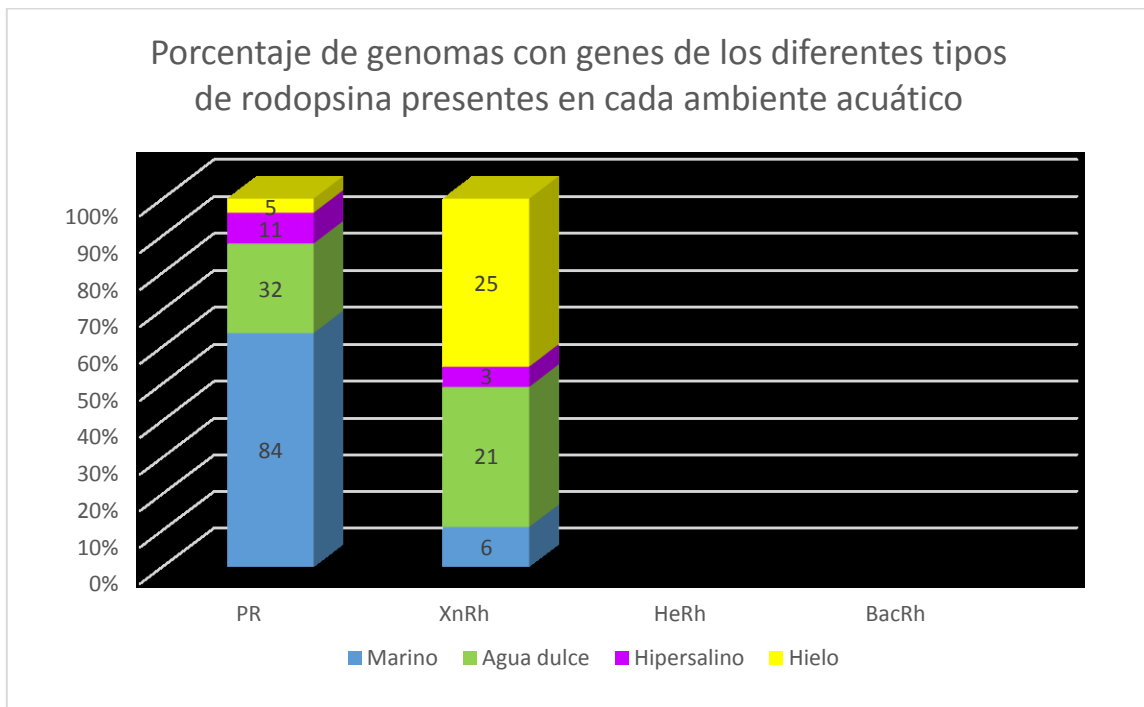


Figura 12. Porcentaje de genes de los diferentes tipos de rodopsinas presentes en los ambientes acuáticos. Los números sobre las barras indican la cantidad de genomas con cada tipo de gen de rodopsina. Los genes de PR son más abundantes en genomas de bacterias aisladas de ambientes marinos (azul). Los genes de XnRh son más abundantes en genomas de bacterias aisladas de ambientes de hielo (amarillo) y ambientes de agua dulce (verde).

Tamaño de genomas: Para analizar el tamaño de los genomas de bacterias que contienen genes de

rodopsina y compararlo con el tamaño de los genomas de las que no tienen esta función, se realizaron pruebas de normalidad para cada grupo de datos utilizando la prueba de Shapiro Wilk, y se obtuvieron valores $p < 0.05$, por lo que no estos datos no presentaron una distribución normal. Sin embargo, al realizar las pruebas de homogeneidad de las varianzas (Bartlett test) se obtuvieron valores $p > 0.05$, por lo que los datos del tamaño de los genomas cumplen con el supuesto de homocedasticidad. En este sentido, se supuso normalidad bajo el teorema de limite central y se realizaron pruebas paramétricas (t Student) para comparar el tamaño medio de cada grupo. Se observó que los genomas de bacterias que tienen genes de rodopsina son significativamente más pequeños (media de 3,849,627 bp) que los genomas que no tienen esta función (media de 4.488,052 bp) (valor $p < 0.05$) (Figura 13 y Tabla 8 en anexos).

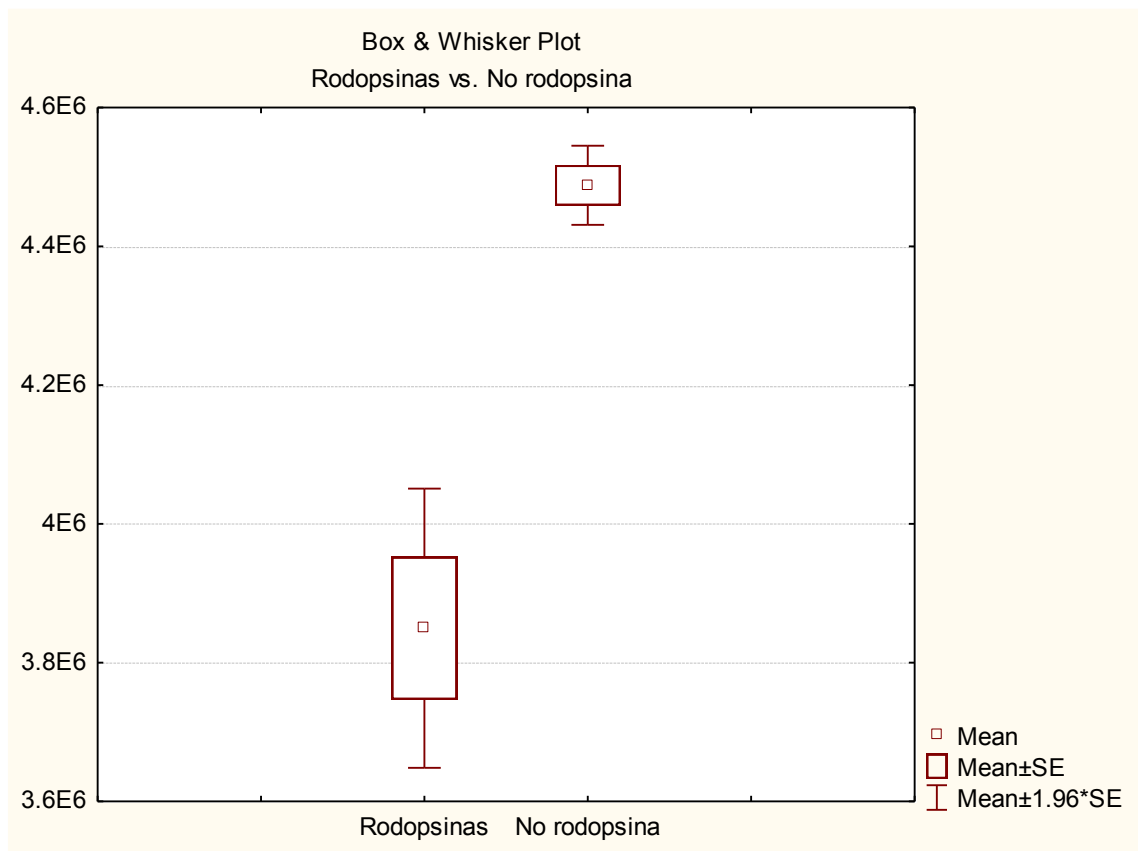


Figura 13. Gráfico de Whisker, tamaño de genomas con y sin genes de rodopsina. Los genomas que contienen genes que codifican rodopsinas son significativamente más pequeños que los genomas que no los contienen.

3.2.2. Patrones de distribución de genes de rodopsina en genomas de los principales grupos taxonómicos bacterianos

3.2.2.1. Proteobacteria

En este trabajo, el *phylum* Proteobacteria representa el grupo con mayor número de genomas depositados en la base de datos IMG (1,937 genomas), de los cuales 87 contienen el Pfam de rodopsina, y representan el 4.49% de los genomas de este grupo (Figura 14).

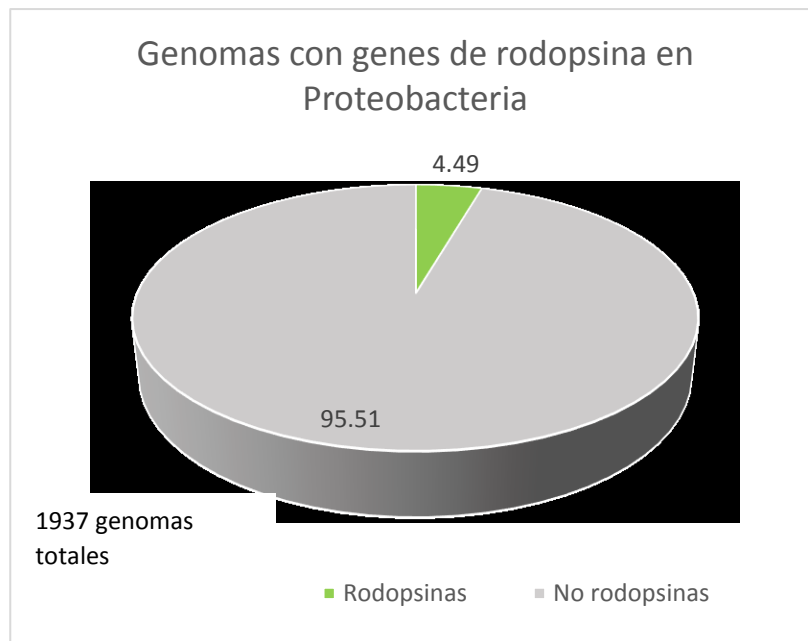


Figura 14. Porcentaje de genomas bacterianos pertenecientes al *phylum* Proteobacteria. Verde indica el porcentaje de genomas con función de rodopsinas.

Genomas con genes de rodopsina en clases del *phylum* Proteobacteria: Dentro de este *phylum* se identificaron ocho clases cuatro con presencia del Pfam de rodopsinas, Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Deltaproteobacteria, Gammaproteobacteria, y cuatro sin dicha función, Epsilonproteobacteria, Zetaproteobacteria, Oligoflexia y Acidithiobacillia. Las clases con mayor número de genomas disponibles en la base de datos son las Gammaproteobacteria, con 1054 aislados, y Alphaproteobacteria con 505. Sin embargo, solo el 3.4% y 7.6% de estos genomas tiene genes de rodopsinas respectivamente (Figura 15).

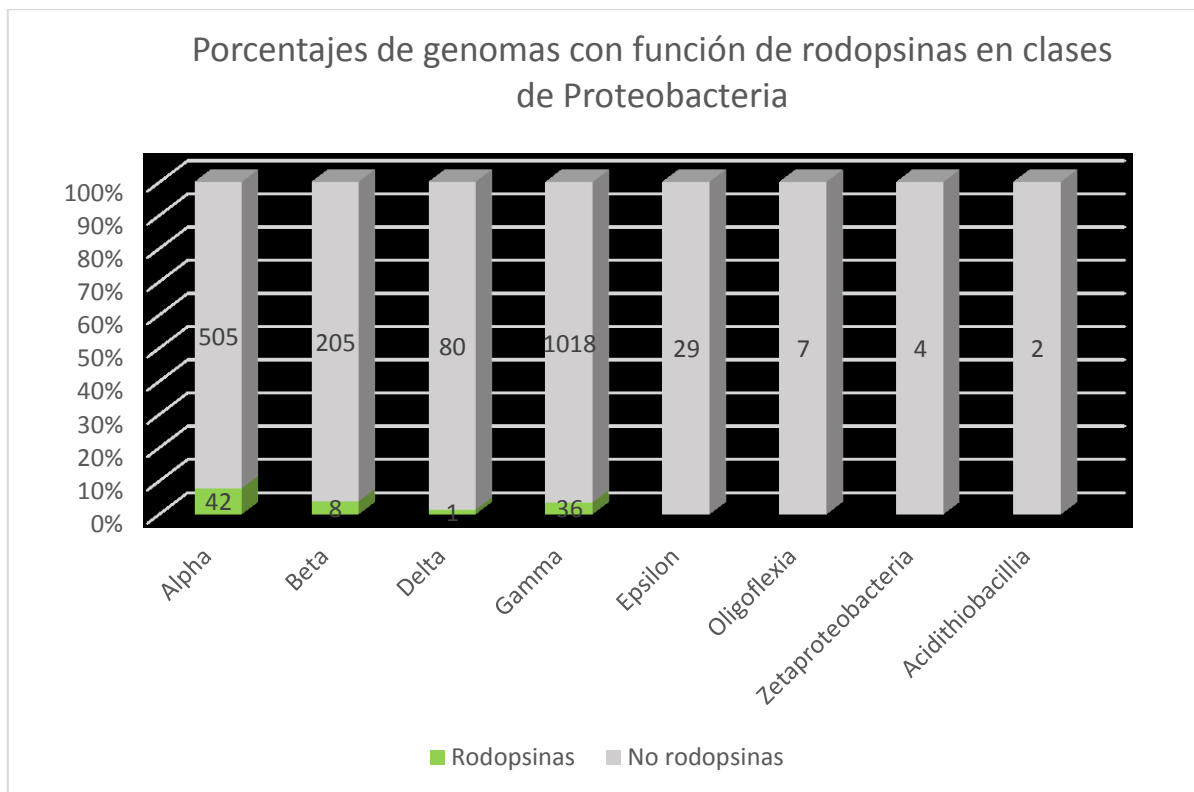


Figura 15. Clases del *phylum* Proteobacteria aisladas de medios acuáticos. Las barras verdes indican el porcentaje de genomas con genes de rodopsina en cada clase, los números en las barras indican la cantidad de genomas hallados en cada grupo.

Distribución de genomas con genes de rodopsina en el *phylum* Proteobacteria en cada ambiente acuático: Los genomas de bacterias en el *phylum* Proteobacteria se identificaron ampliamente distribuidos en todos los ambientes acuáticos, con excepción del ambiente de hielo, donde solo se identificaron dos aislados. El ambiente marino presenta una mayor proporción de genomas de este *phylum* (52.4%) seguido por ambientes de agua dulce donde se identificó el 32% de los genomas. Sin embargo, dentro de este grupo, solo el 5.8% de los genomas marinos y el 2.4% de los aislados en agua dulce contiene genes de rodopsina (Figura 16).

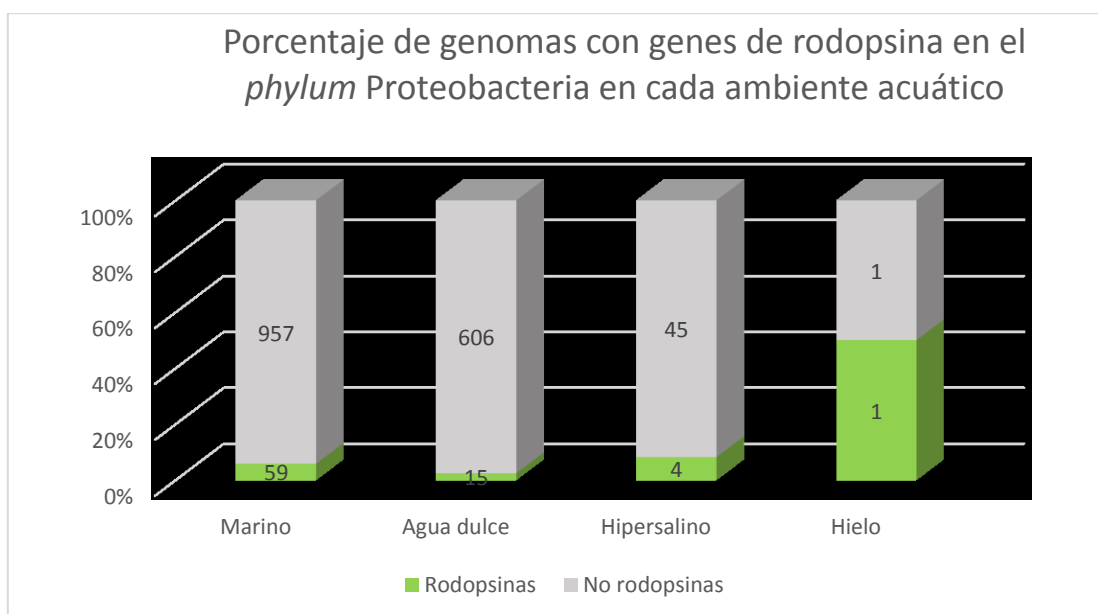


Figura 16. Porcentaje de genomas de bacterias del *phylum* Proteobacteria en cada ambiente acuático disponibles en la base de datos IMG. Las barras verdes indican el porcentaje de genomas con genes de rodopsina, los números sobre las barras indican el número total de genomas en la base de datos para cada grupo.

Distribución de los diferentes genes de rodopsina en genomas del *phylum* Proteobacteria: Los genes de PR fueron identificados como los más abundantes en este *phylum* con el 75.3%, mientras que el 24.6% restante se clasificó como rodopsina de tipo XnRh (Figura 17). Por otra parte, los genes de PR se identificaron en mayor proporción en ambientes marinos (80%). Por su parte, el 46% de los genes de XnRh se identificaron en genomas de bacterias aisladas de ambientes de agua dulce y solo el 26% en ambientes marinos (Figura 18). Cabe mencionar que algunos de los genomas de la base de datos del IMG solo se clasifican como bacterias aisladas de ambientes acuáticos, sin determinar el tipo de ambiente acuático específico y por lo tanto no se pudieron considerar en este análisis.

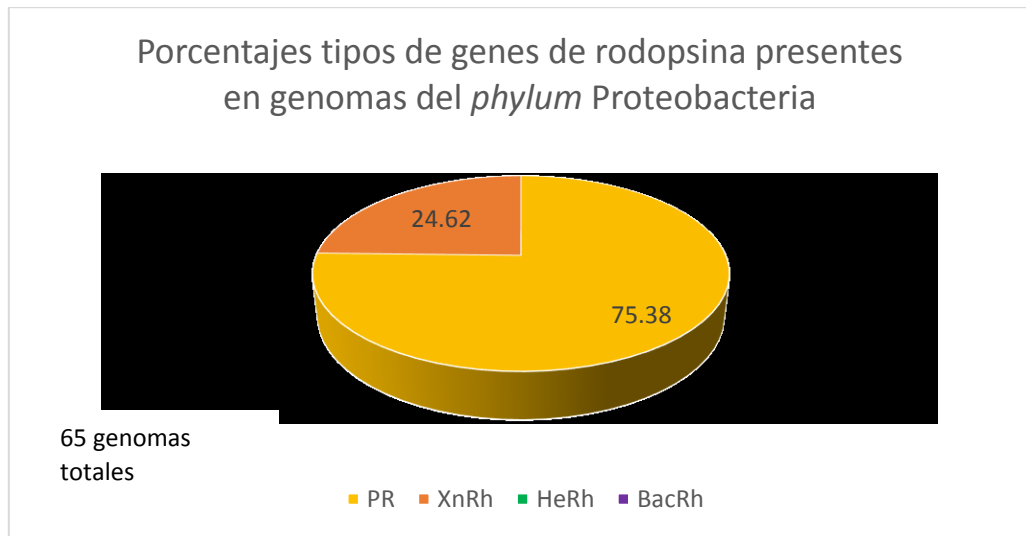


Figura 17. Porcentaje de los diferentes genes de rodopsina presentes en genomas del *phylum* Proteobacteria aisladas de ambientes acuáticos. Los genes de PR son el tipo de gen predominante en genomas de este grupo con el 75% (amarillo).

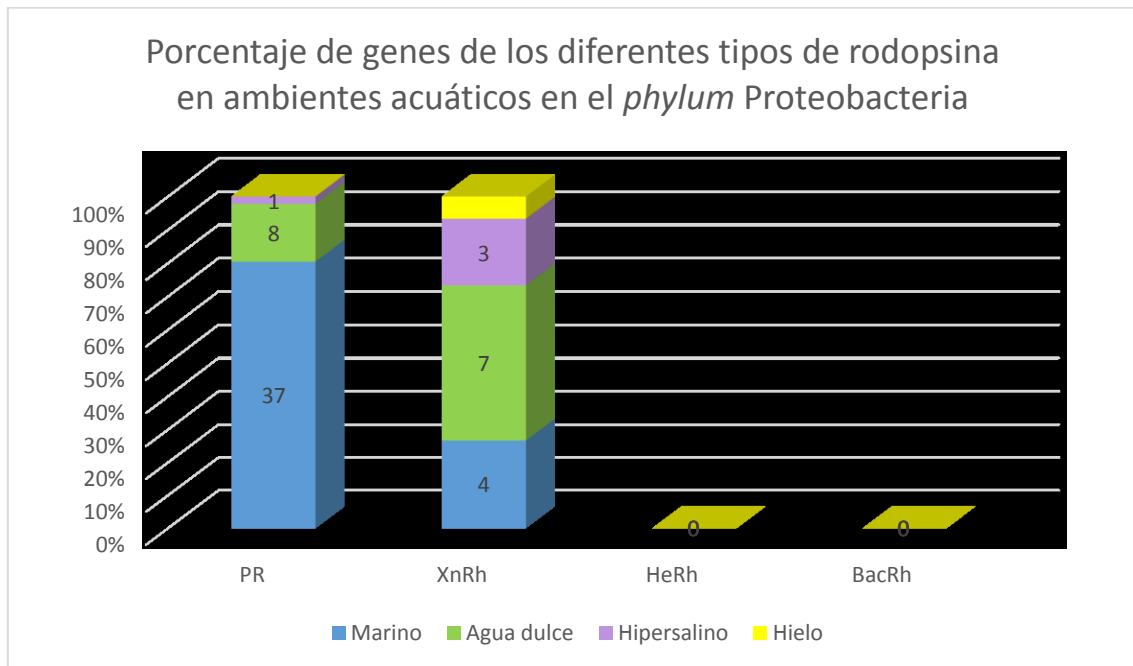


Figura 18. Porcentajes de genes de los diferentes tipos de rodopsinas en genomas del *phylum* Proteobacteria por cada tipo de ambiente acuático. Los genes de PR son más abundantes en genomas bacterias marinas (azul), mientras que los genes de XnRh son más abundantes en genomas de bacterias aisladas de ambientes de agua dulce (verde).

Distribución de genes de rodopsinas en clases del *phylum* Proteobacteria en cada ambiente acuático: En los ambientes marinos se identificó la función de rodopsina en genomas de cuatro clases: Alphaproteobacteria con el 40%, Gammaproteobacteria con el 52%, Betaproteobacteria con el 5% y Deltaproteobacteria 1.6% de los genomas. En ambientes hipersalinos solo se identificaron genomas con genes de rodopsina en las clases Alphaproteobacteria y Gammaproteobacteria, con el 50% de los genomas cada uno. Por otro lado, la clase Alphaproteobacteria es más abundante casi con el 60% de los genomas con rodopsinas en ambientes de agua dulce (15 genomas) (Figura 19).

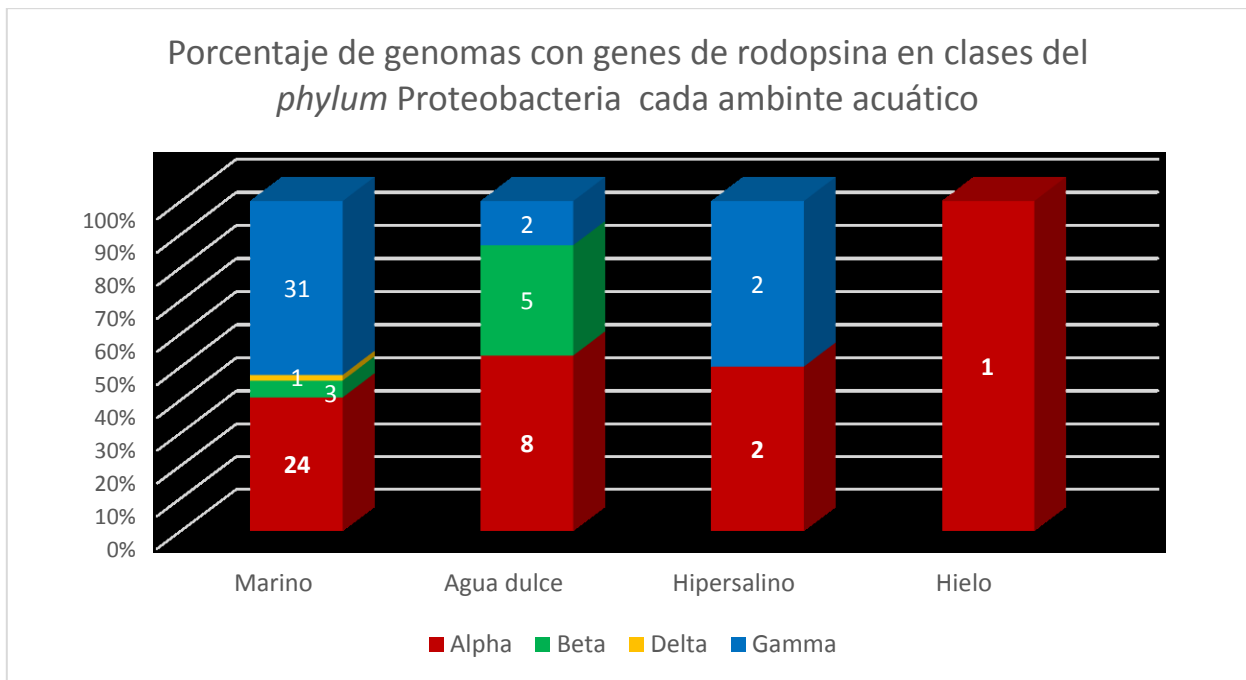


Figura 19. Porcentajes de genomas con genes de rodopsina en clases del *phylum* Proteobacteria en cada ambiente acuático. La mayoría de los genomas con genes de rodopsina pertenecen a los grupos Alphaproteobacteria (guinda) y Gammaproteobacteria (azul) en todos los ambientes acuáticos.

Tamaño de genomas de Proteobacteria con y sin genes de rodopsina: Con los datos del tamaño de los genomas que tienen o no tienen función de rodopsina, se realizaron pruebas paramétricas asumiendo distribución normal (bajo el teorema de límite central) y homogeneidad de las varianzas (prueba de Bartlett). Se observó que los genomas del *phylum* Proteobacteria con genes de rodopsina son significativamente más pequeños (media de 3,508,868 bp) que los genomas que no tienen dichos genes (media de 4,645,468 bp) (valor $p < 0.05$) (Figura 20 y Tabla 9 en anexos).

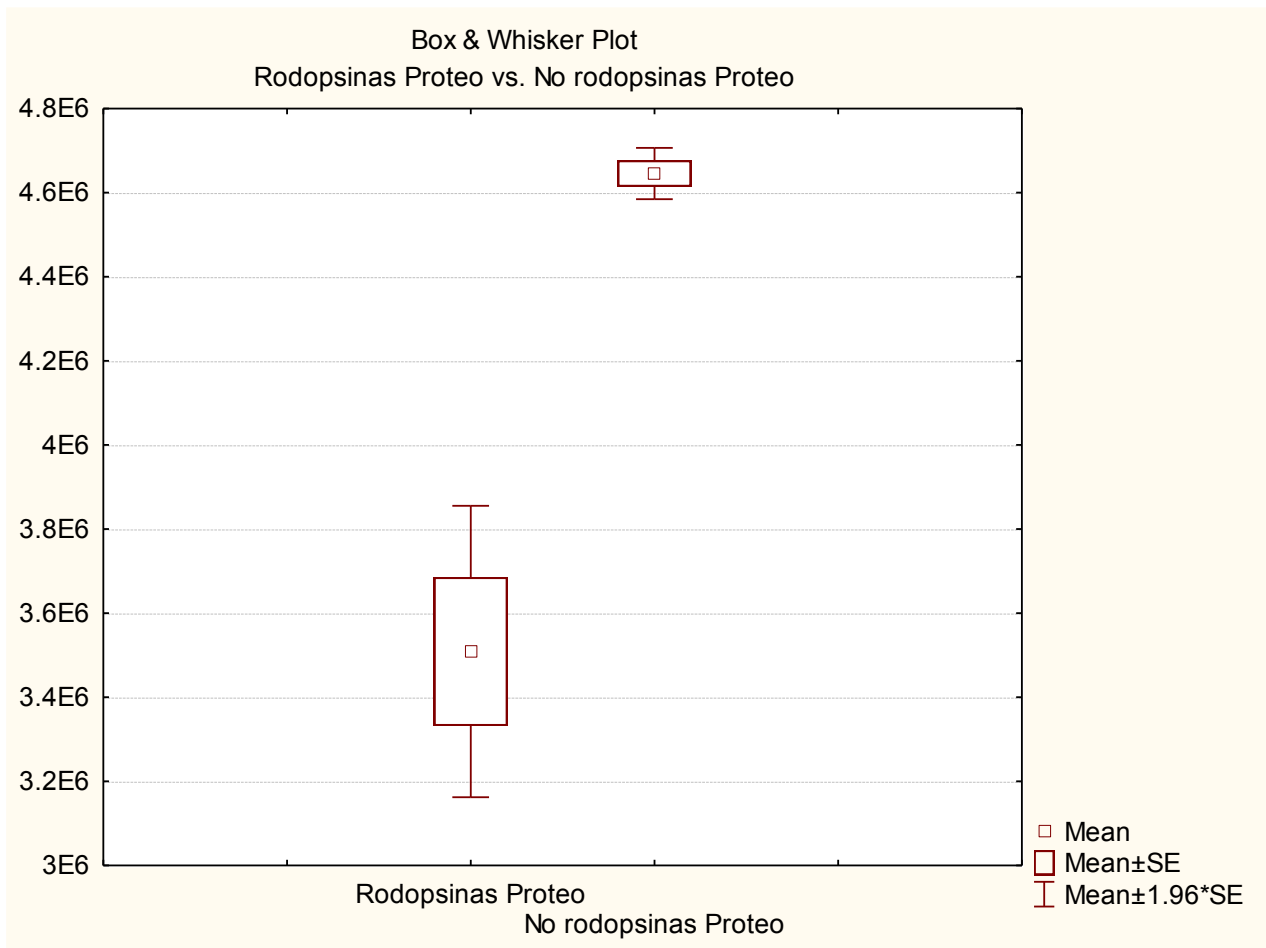


Figura 20. Gráfico de Whisker, tamaño de genomas del *phylum* Proteobacteria con y sin genes de rodopsina. Los genomas de este grupo que contienen genes que codifican rodopsinas son significativamente más pequeños que los genomas que no las contienen.

Genomas con genes de rodopsina en órdenes de la clase Alphaproteobacteria: Las clases más abundantes y diversas dentro del *phylum* Proteobacteria son Alphaproteobacteria y Gammaproteobacteria. En cuanto a la clase Alphaproteobacteria, se determinó que el 48% de los genomas con genes de rodopsina aislados de ambientes marinos pertenece al grupo Pelagibacterales, siendo el orden más abundante. En agua dulce, Sphingomonadales es el orden con mayor porcentaje de genomas con esta función (37%), mientras que los órdenes Rhizobiales y Pelagibacterales conforman el 25% cada uno. Por su parte, en ambientes hipersalinos solo se identificaron genes de rodopsina en genomas de bacterias del orden Rhodospirillales (Figura 21).

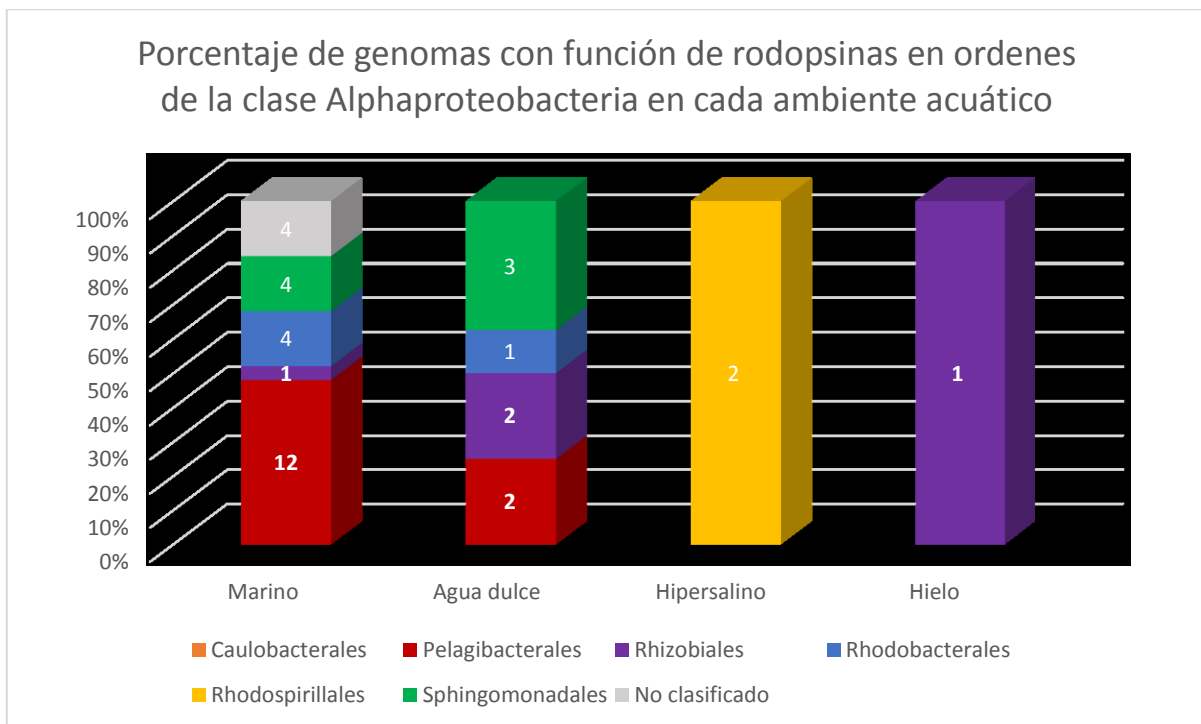


Figura 21. Porcentaje de genomas de con genes de rodopsinas en órdenes de la clase Alphaproteobacteria en distintos ambientes acuáticos. Los números en las barras indican el número de genomas identificado en cada grupo.

Genomas con genes de rodopsina en órdenes de la clase Gammaproteobacteria: El 50% de genomas de Gammaproteobacteria marinas con genes de rodopsina pertenece al orden Vibrionales, siendo este el grupo con mayor porcentaje de genomas con genes de rodopsina en ese ambiente. En ambientes de agua dulce, el orden Oceanospirillales representó más del 70% de los genomas con genes de rodopsina, mientras que en ambientes hipersalinos solo se identificaron genes de rodopsina en genomas de los órdenes Thiotrichales y Chromatiales (Figura 22).

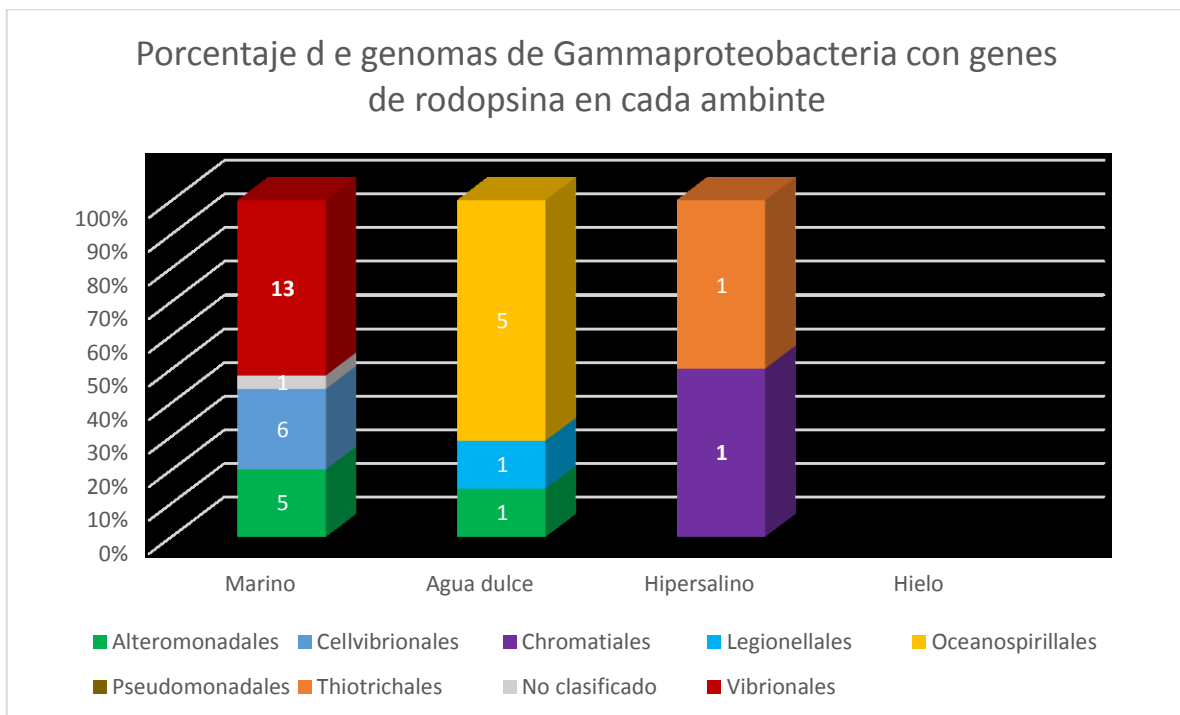


Figura 22. Porcentaje genomas con genes de rodopsina dentro de los distintos órdenes de la clase Gammaproteobacteria en cada ambiente. Los números en las barras indican el número de genomas identificado en cada grupo.

Resumen de patrones identificados en genomas del *phylum* Proteobacteria

- Representan el *phylum* más diverso y con mayor número de genomas en la base de datos IMG.
- Solo se identificaron genes de rodopsina (con el Pfam correspondiente) en el 4.4% de los genomas de este grupo.
- Se identificó la presencia de genomas con función de rodopsina en todos los ambientes acuáticos (con excepción de hielo), principalmente el ambiente marino.
- El gen de rodopsina predominante en genomas de bacterias de este grupo es el que codifica PR.
- Alphaproteobacteria y Gammaproteobacteria son las clases con mayor número de genomas con genes de rodopsina.

- Dentro de la clase Alphaproteobacteria, Pelagibacterales es el orden con más genomas identificados en ambiente marino y el orden Sphingomonadales en agua dulce.
- Dentro de la clase Gammaproteobacteria, el orden Vibrionales tiene mayor incidencia de genes de rodopsina en ambientes marinos y el orden Oceanospirillales en agua dulce.
- Los genomas con genes de rodopsina del *phylum* Proteobacteria son más pequeños que los genomas que no tienen esta función.

3.2.2.2. Bacteroidetes

Se identificaron 273 genomas de bacterias aisladas dentro del *phylum* Bacteroidetes en la base de datos genómica de IMG, de los cuales 68 (el 24.9%) tienen el Pfam de rodopsina. (Figura 23).

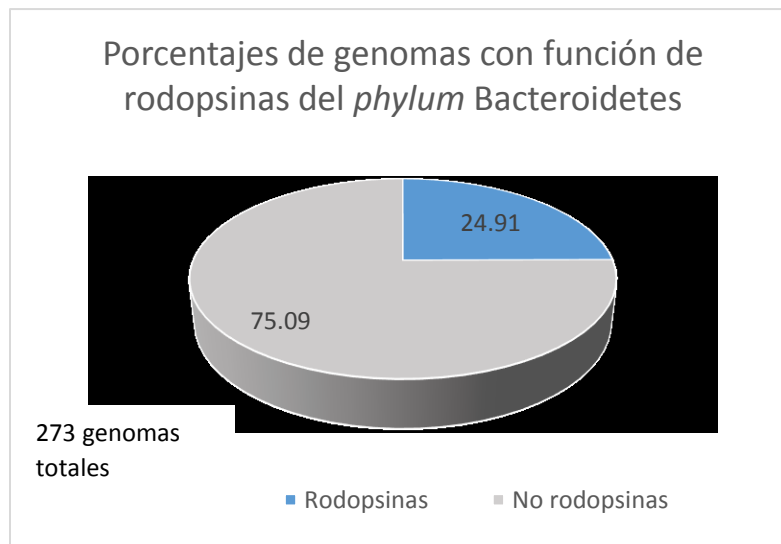


Figura 23. Porcentaje de genomas del *phylum* Bacteroidetes aislados en ambientes acuáticos. Tono azul indica porcentaje de genomas con genes de rodopsina.

Órdenes del *phylum* Bacteroidetes: Se identificaron siete órdenes dentro de este grupo, de los cuales Cytophagales, Flavobacteriales, Saprospirales, Rhodothermales presentaron genes de rodopsinas, mientras que en los órdenes Marinilabiales, Sphingobacteriales y Bacteriales no se identificó esta función. Los órdenes con un mayor número de genomas identificados son: Flavobacteriales con 175 genomas, y Cytophagales con 61, además en estos grupos se identificó gran incidencia de rodopsinas, ya que el 23% y el 34% de sus genomas tiene genes de rodopsina, respectivamente (Figura 24).

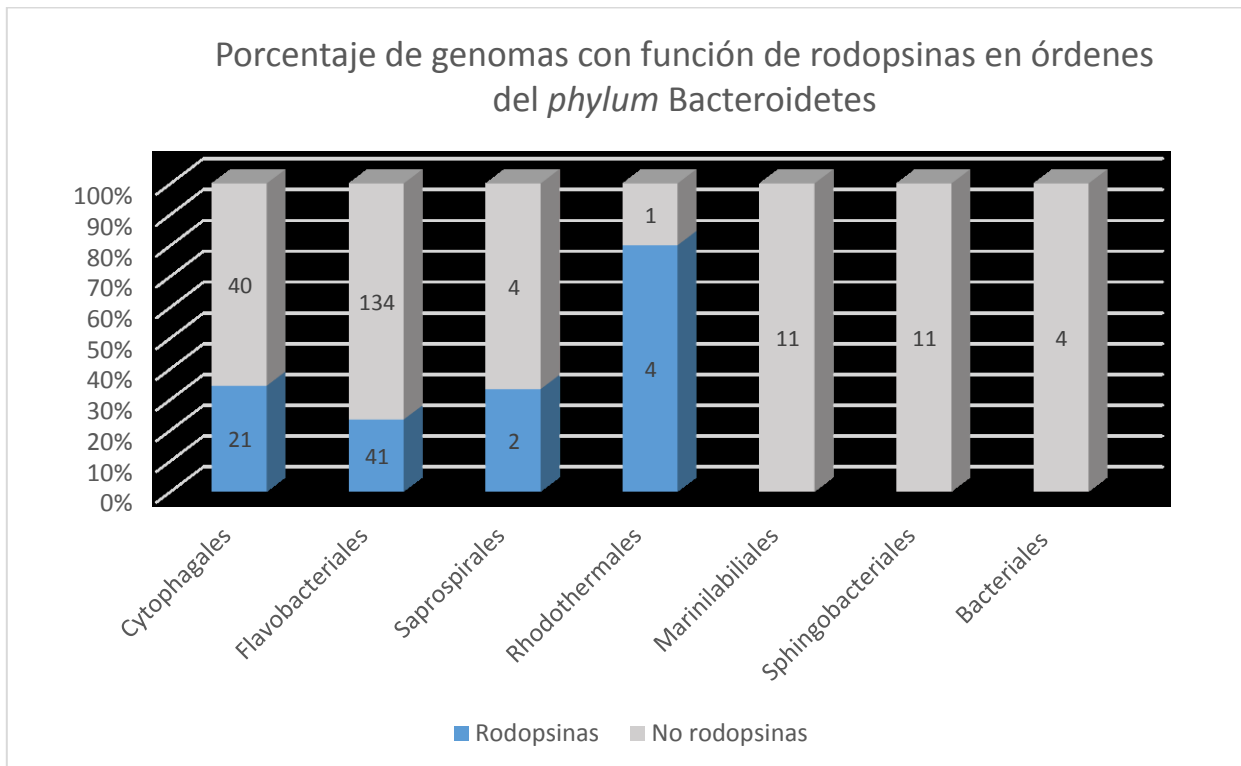


Figura 24. Porcentaje de genomas de órdenes del *phylum* Bacteroidetes aisladas de medios acuáticos. Las barras azules indican el porcentaje de genomas con genes de rodopsina en cada orden, los números en las barras indican la cantidad de genomas identificados en cada grupo.

Distribución de genomas del *phylum* Bacteroidetes en cada ambiente acuático: El mayor porcentaje de los genomas en este grupo se identificó en ambientes marinos con el 56.7%, seguido de ambientes de agua dulce con el 25.2%, mientras que el 11.7% de los genomas pertenecen a bacterias aisladas de ambientes de hielo. Los genes que codifican rodopsinas se identificaron con mayor incidencia en zonas hipersalinas, con el 71% de los genomas, mientras que en ambientes marinos el 27% de los genomas contiene este gen. En ambientes de agua dulce, el 17% de los genomas contiene genes de rodopsina. Mientras que en ambientes de hielo no se han identificado genomas con genes de rodopsina (Figura 25).

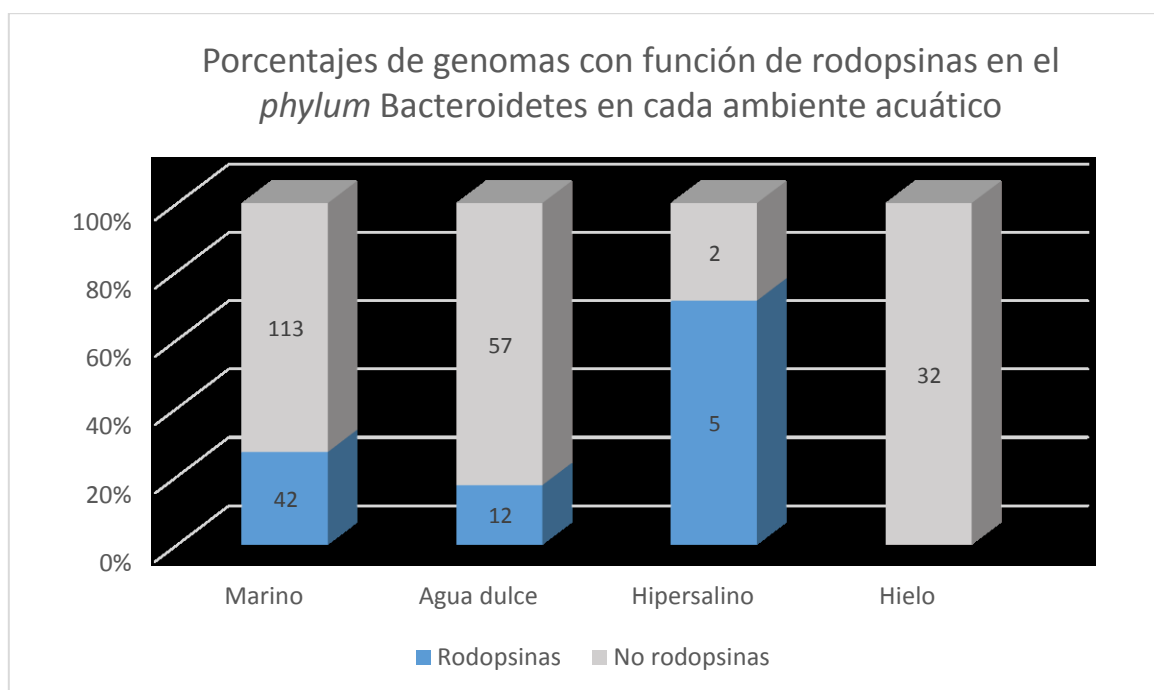


Figura 25. Porcentaje de genomas con genes de rodopsina del *phylum* Bacteroidetes en cada ambiente acuático. Las barras azules indican el porcentaje de genomas con genes de rodopsina, los números sobre las barras indican la cantidad de genomas en cada grupo.

Presencia de los distintos genes de rodopsina en genomas del *phylum* Bacteroidetes: Los genes que codifican PR son más abundantes en este *phylum* con el 95.2% de los genomas, mientras que el 4.7% restante se identificó como genes de rodopsina de tipo XnRh (Figura 26).

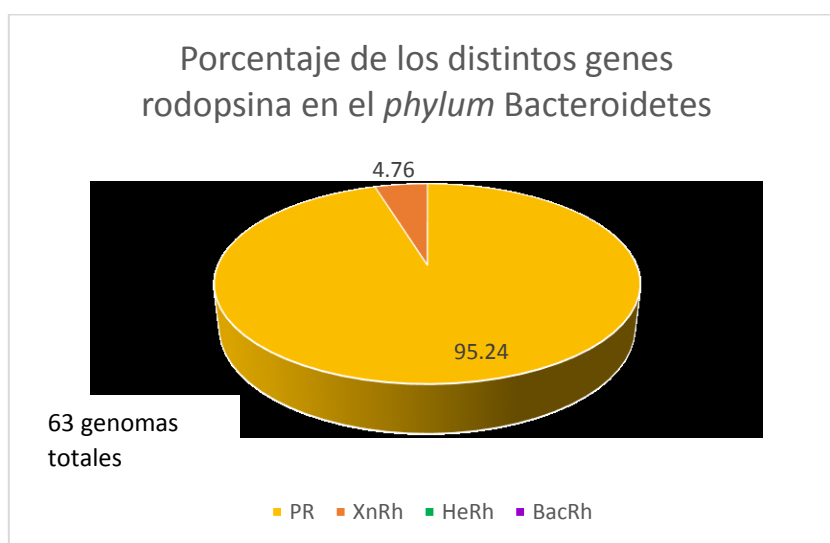


Figura 26. Porcentaje de los diferentes genes de rodopsina en genomas del *phylum* Bacteroidetes aisladas de ambientes acuáticos. Las PR son el tipo de rodopsina predominante en genomas de este grupo (amarillo).

En Bacteroidetes, los genes de PR son más abundantes en ambientes marinos con el 60% de los genomas, mientras que en agua dulce se identificó el 19%, y el 3% en ambientes hipersalinos. El 33.3% de los genes de XnRh se identificaron en ambientes marinos (Figura 27). Algunos de los genomas solo se reportan en la base de datos de IMG como aislados acuáticos, por lo que el tipo de ambiente específico no está identificado y no se consideraron en este análisis.

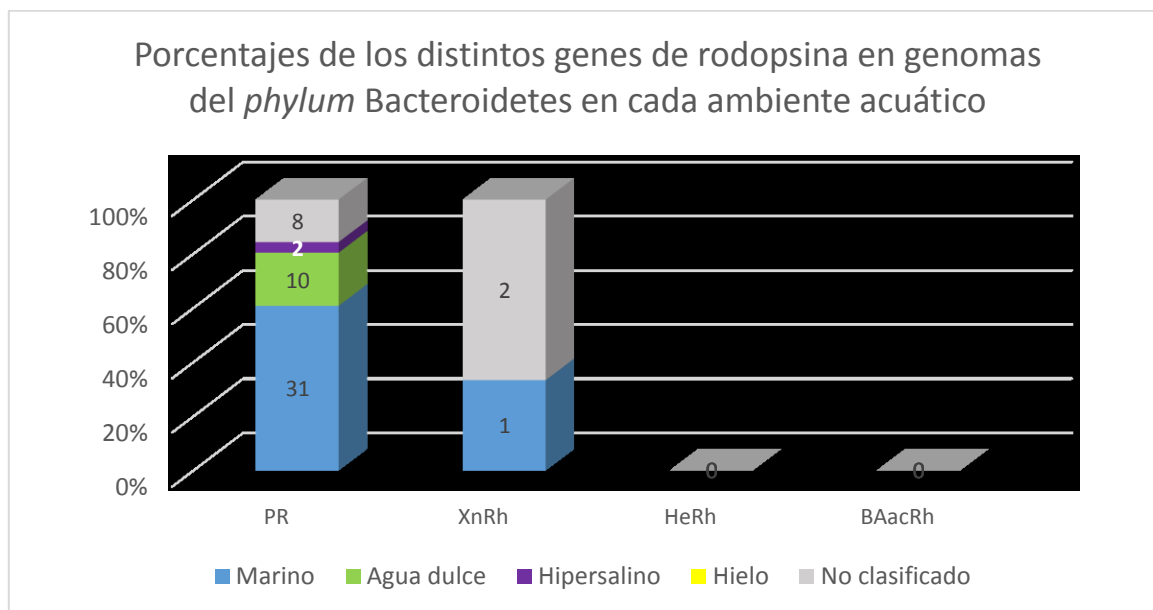


Figura 27. Porcentajes de los distintos genes de rodopsina en genomas del *phylum* Bacteroidetes en cada tipo de ambiente acuático.

Genomas de órdenes del *phylum* Bacteroidetes con genes de rodopsina en cada ambiente: En los ambientes marinos se identificaron cuatro órdenes con genes de rodopsina; Flavobacteriales con el 73.8% de los genomas fue el más abundante, seguido por Cytophagales con el 19%, Saprospirales con el 4.7% y Rhodothermales con el 2.3%. En los ambientes hipersalinos solo se identificaron genomas con genes de rodopsina en los órdenes Flavobacteriales y Rhodothermales con el 80 y 20% de los genomas respectivamente. En ambientes de agua dulce Cytophagales fue el orden con más genomas identificados con esta función, casi el 75% (Figura 28).

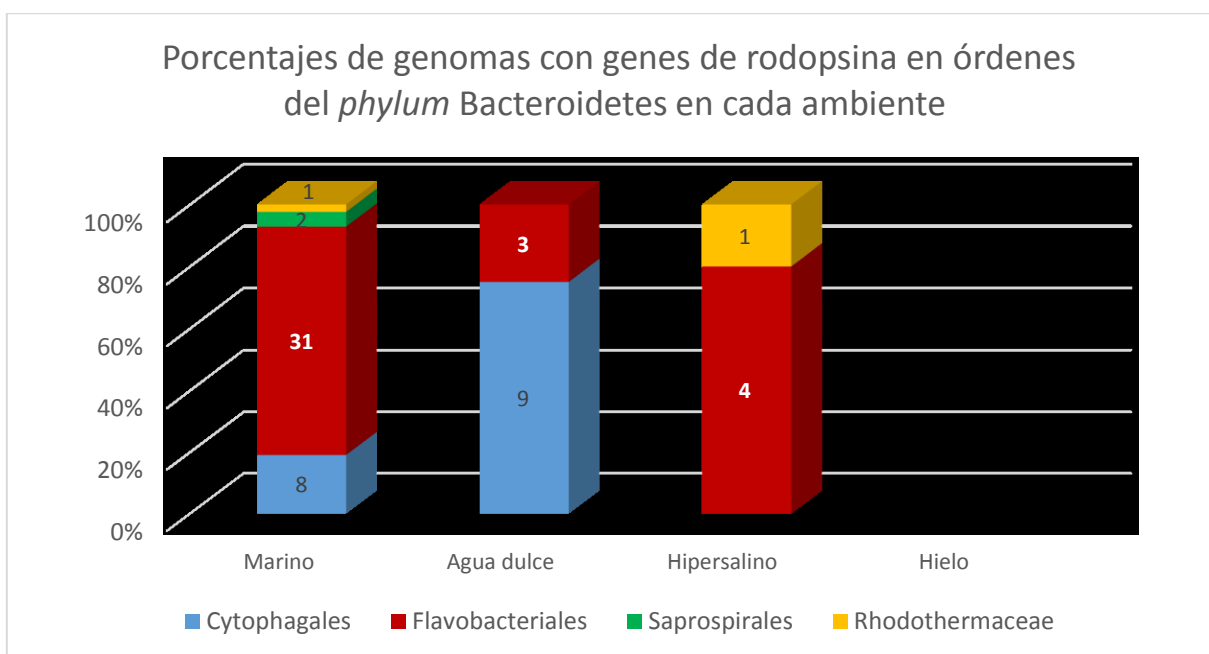


Figura 28. Porcentajes de genomas con genes de rodopsina en órdenes del *phylum* Bacteroidetes en cada ambiente acuático. Flavobacteriales (guinda) predomina en ambientes marinos e hipersalinos. Cytophagales (azul) predomina en ambientes de agua dulce.

Por otra parte, en los análisis estadísticos realizados no se identificó diferencia significativa entre el tamaño de los genomas de Bacteroidetes con genes de rodopsina (media de 4,171,740 bp) y los genomas que no tienen esta función (media de 4,378,878 bp) (valor $p = 0.19$) (Figura 29 y Tabla 10 en anexos).

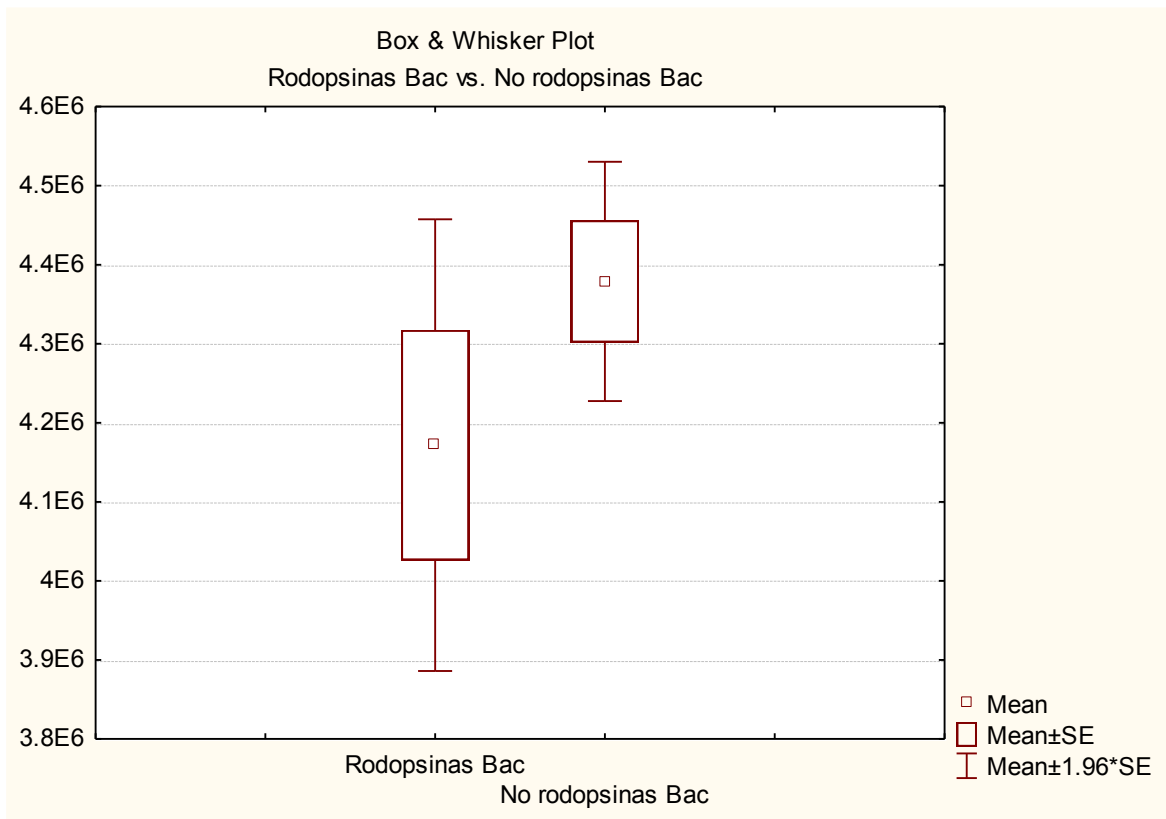


Figura 29. Gráfico de Whisker, tamaño de genomas del *phylum* Bacteroidetes con rodopsinas y sin rodopsinas. El tamaño de los genomas de Bacteroidetes que contienen genes que codifican rodopsinas no es estadísticamente diferente al de los genomas que no los contienen.

Resumen de patrones encontrados en el *phylum* Bacteroidetes

- Es el *phylum* con mayor incidencia de genes de rodopsina; cerca del 25% de los genomas de este grupo contiene dichos genes.
- El 56% de los genomas de este grupo pertenece a bacterias aisladas de ambientes marinos, seguido por ambientes de agua dulce con el 25% de los genomas.
- El 27% de los genomas de bacterias aisladas de ambientes marinos dentro de este grupo contiene genes de rodopsina.
- El tipo de gen de rodopsina con mayor presencia en genomas de este grupo es el de PR con el 95.2% de los genomas.

- Los dos órdenes con mayor incidencia de esta función son: Cytophagales y Flavobacteriales.
- En ambientes marinos, los genomas de bacterias del orden Flavobacteriales tienen la mayor incidencia de genes de rodopsinas, mientras que en agua dulce el orden Cytophagales tiene un mayor número de genomas con dichos genes.
- No se identificaron diferencias significativas entre el tamaño de los genomas con y sin genes de rodopsina.

3.2.2.3. Actinobacteria

Se identificaron 278 genomas pertenecientes a este grupo, de los cuales 51 presentaron genes de rodopsina, es decir, el 19.7% (Figura 30).

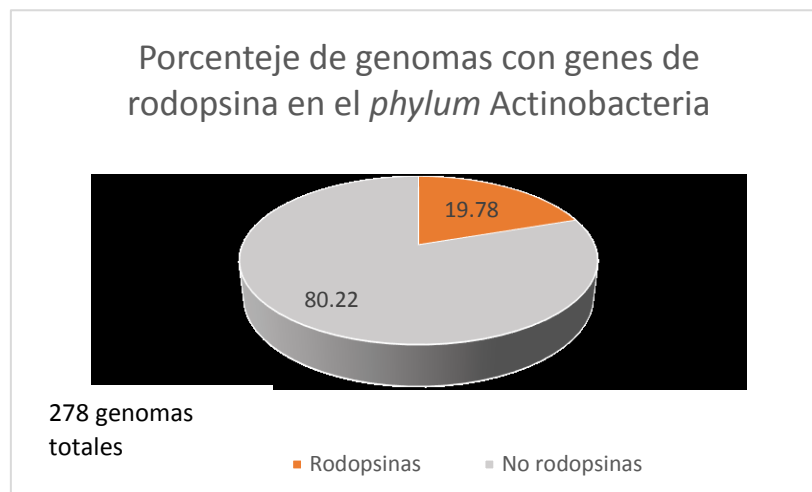


Figura 30. Porcentaje de genomas del *phylum* Actinobacteria aislados de ambientes acuáticos. Tono anaranjado indica porcentaje de genomas con genes de rodopsina.

Órdenes de Actinobacteria: Dentro de este *phylum* se identificaron genomas pertenecientes a diez órdenes, el que mayor número de genomas presentó es Micrococcales con 110 genomas, seguido por Micromonosporales con 48 genomas y los Corynebacteriales con 45. Además, en los órdenes

Micrococcales y Micromonosporales se identificaron genes de rodopsinas en el 40 y 14.5% de los genomas, respectivamente (Figura 31).

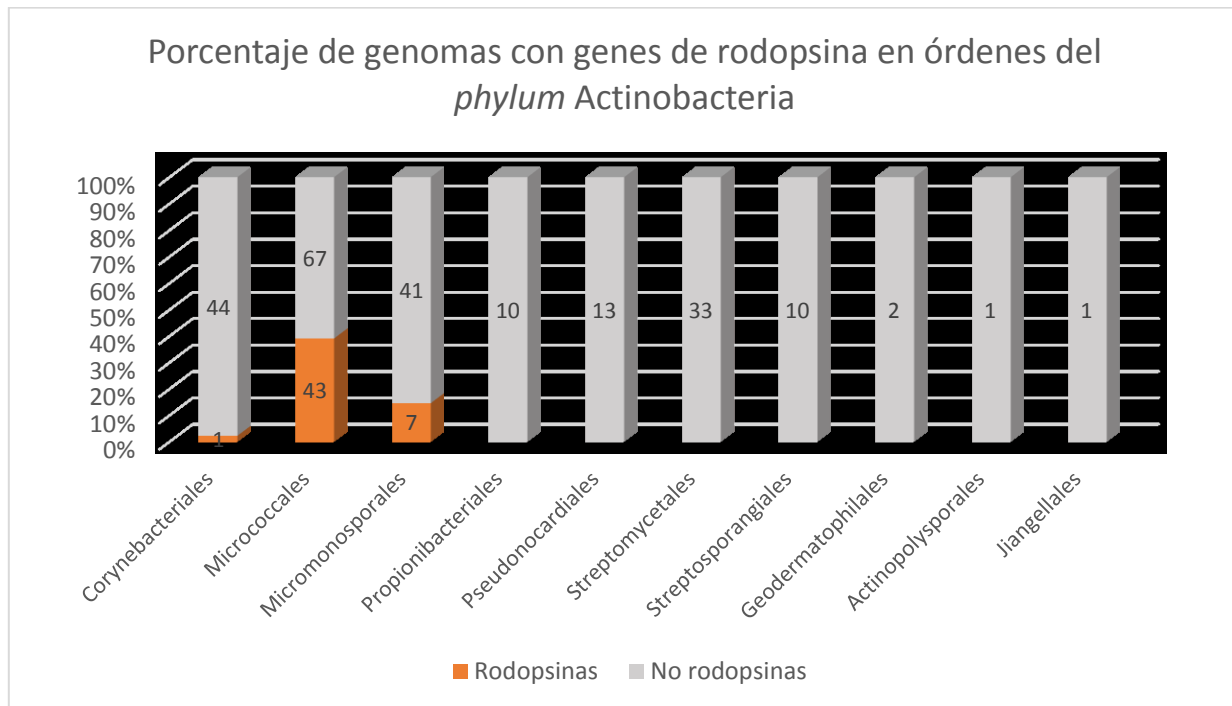


Figura 31. Porcentajes de genomas en órdenes del *phylum* Actinobacteria aislados de medios acuáticos. Las barras anaranjadas indican el porcentaje de genomas con genes de rodopsina en cada orden, los números en las barras indican la cantidad de genomas identificados en cada grupo con esta función.

Distribución de genomas del *phylum* Actinobacteria en cada tipo de ambiente acuático: Los ambientes marinos son las zonas en donde se ha identificado la mayor cantidad de genomas del *phylum* Actinobacteria (109 genomas), seguido de los ambientes de agua dulce (79 genomas) y en tercer lugar el ambiente de hielo (50 genomas). Sin embargo, la mayor incidencia de genes de rodopsina en este grupo se identificó en ambientes no salinos como son el agua dulce y el ambiente de hielo, ya que el 21.5% de los genomas identificados en agua dulce presentó genes de rodopsina, y el 54% de los genomas identificados en ambientes de hielo presentó dicha función. En los ambientes salinos como el marino, sólo el 4.5% de los genomas en el *phylum* Actinobacteria tiene genes de rodopsina, y el 18% en ambientes hipersalinos (Figura 32).

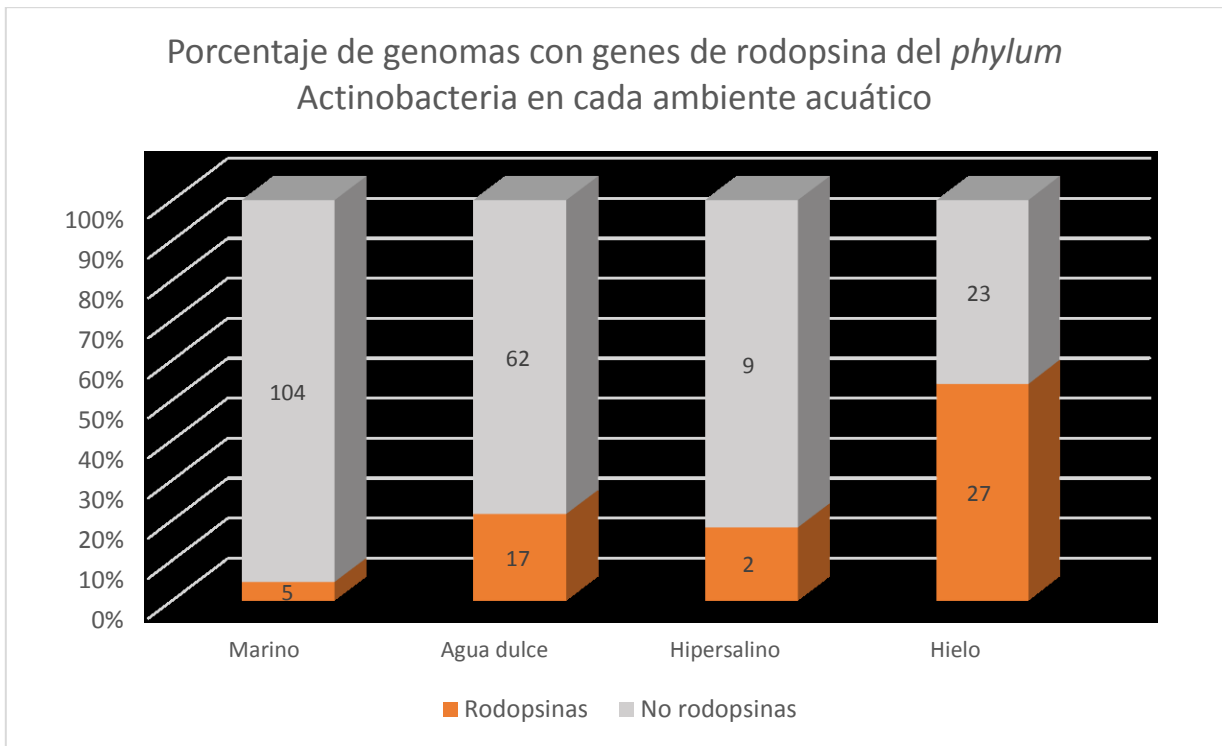


Figura 32. Porcentaje de genomas con genes de rodopsina en el *phylum* Actinobacteria en cada ambiente acuático. Las barras anaranjadas indican el porcentaje de genomas con genes de rodopsina, los números sobre las barras indican la cantidad de genomas en cada grupo.

Presencia de distintos genes de rodopsina en el *phylum* Actinobacteria: Los genes que codifican rodopsinas del tipo XnRh fueron más abundantes en genomas de este *phylum* con el 64.9%, mientras que el 35% restante se identificó como genes de PR (Figura 33). El 31.5% de los genes de PR se identificaron en ambientes de hielo, mientras que en ambientes marinos se identificó el 25%. A su vez, el 63% de los genes de XnRh se identificó en genomas de bacterias aisladas de ambientes de hielo y el 31% en ambientes de agua dulce (Figura 34). Algunos de los genomas en la base de datos de IMG se clasifican como aislados acuáticos, sin especificar en ambiente específico y por lo tanto no se pudieron considerar en este análisis.

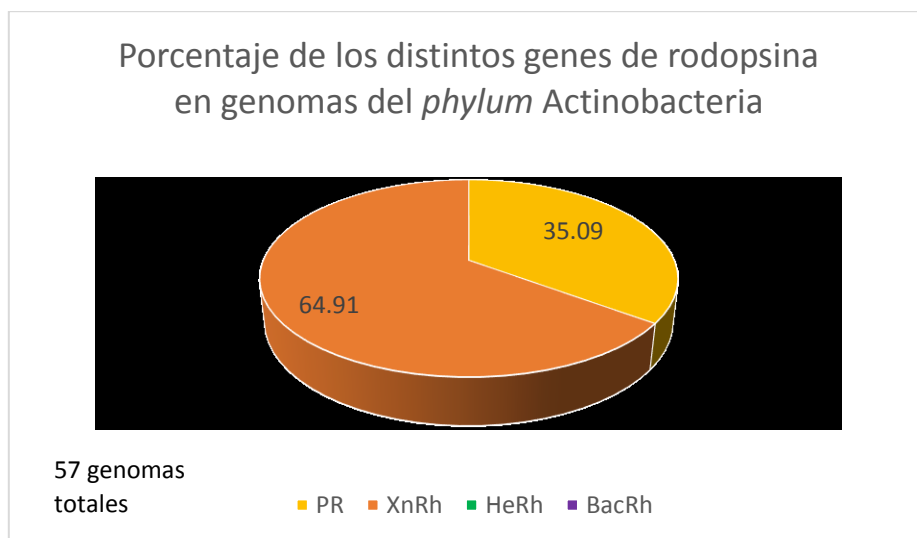


Figura 33. Porcentaje de los diferentes genes de rodopsina en genomas de bacterias del *phylum* Actinobacteria aisladas de ambientes acuáticos. Las XnRh (anaranjado) son el tipo de gen de rodopsina predominante en genomas de Actinobacteria.

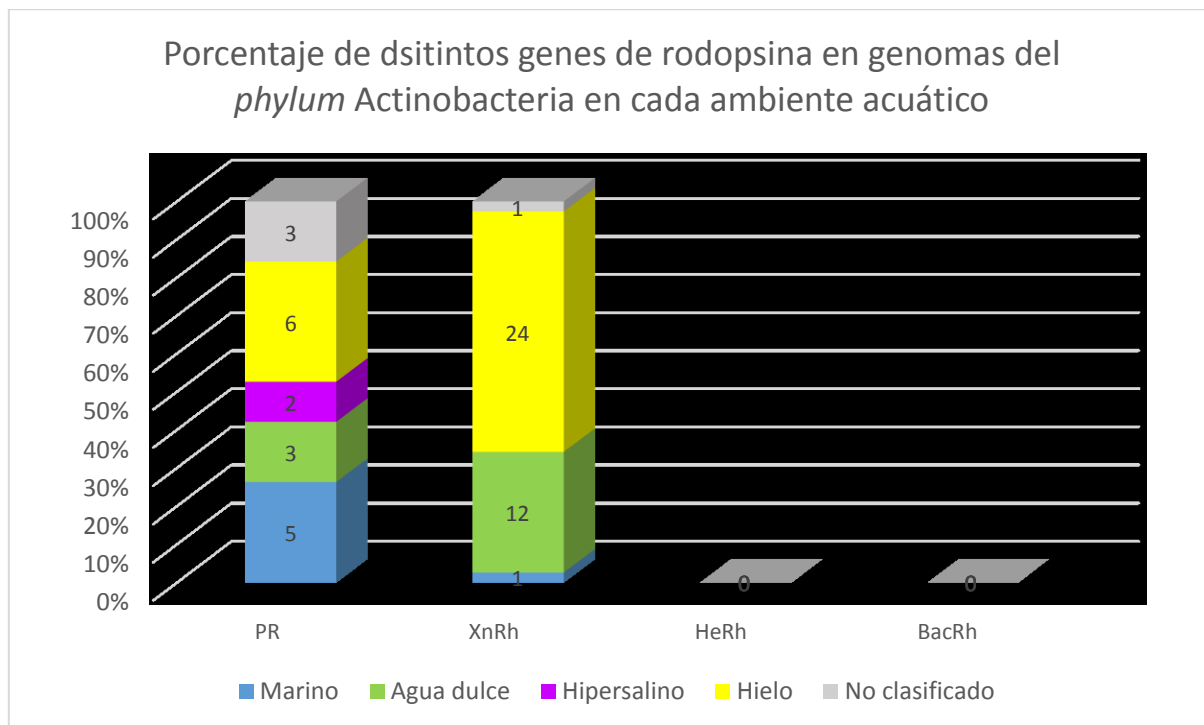


Figura 34. Porcentajes de los diferentes genes de rodopsina en genomas del *phylum* Actinobacteria por cada tipo de ambiente acuático. Los genes de XnRh son abundantes en ambientes de hielo (amarillo) y ambientes de agua dulce (verde).

Distribución de genomas de con genes de rodopsina en órdenes del *phylum* Actinobacteria en cada ambiente acuático: En los ambientes salinos se identificó mayor incidencia del orden Micromonosporales, con el 80% de genomas con genes de rodopsina en ambientes marinos y 100% en ambiente hipersalinos. Por otro lado, en ambientes no salinos el orden Micrococcales es el grupo mejor representado, con el 91% de genomas con genes de rodopsina en agua dulce y el 100% en ambientes de hielo (Figura 35).

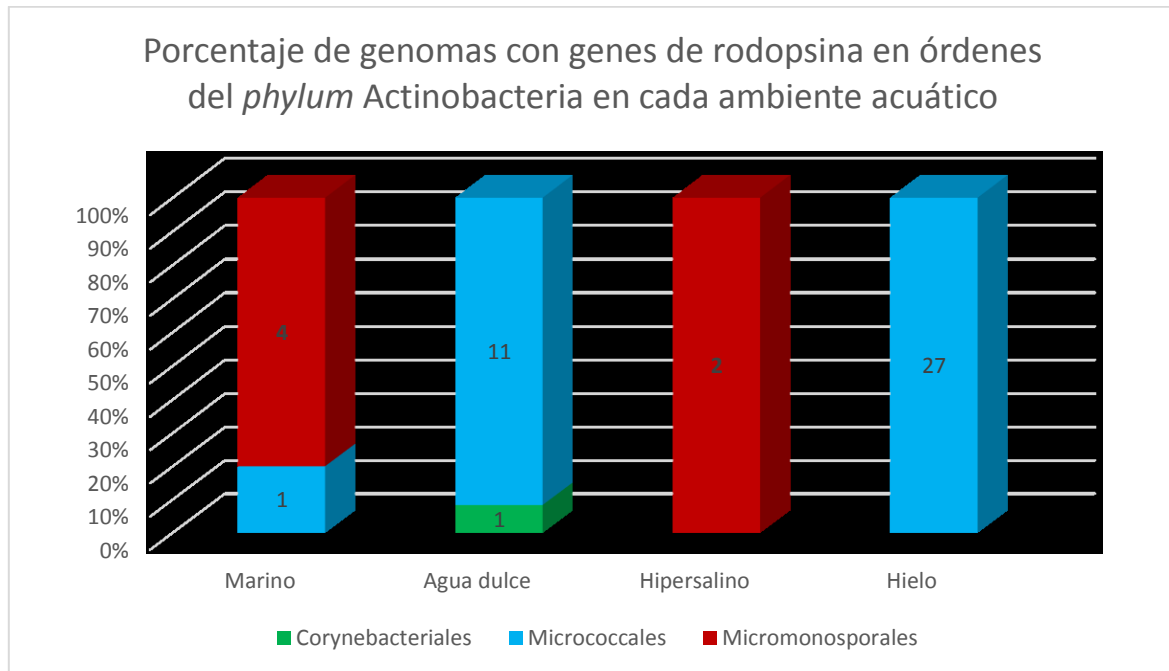


Figura 35. Porcentajes de genomas con genes de rodopsina en órdenes del *phylum* Actinobacteria en cada ambiente acuático. El número en las barras indica la cantidad de genomas de cada grupo. Micromonosporales (guinda) predomina en ambientes marinos e hipersalinos. Micrococcales (azul) predomina en ambientes de hielo y de agua dulce.

Tamaño de genomas del *phylum* Actinobacteria con y sin genes de rodopsina: Los genomas de bacterias del *phylum* Actinobacteria que presentan genes de rodopsina son significativamente más pequeños (media de 3,666,018 bp) que los genomas que no tienen dicha función (media de 5,371,208 bp) (valor $p < 0.05$) (Figura 36 y Tabla 11 en anexos).

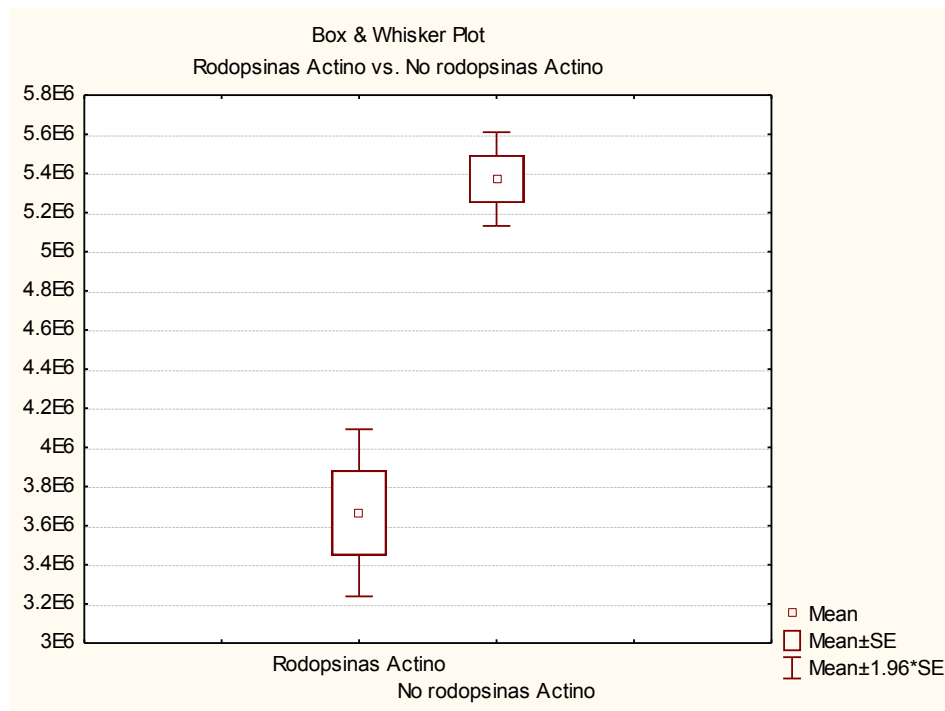


Figura 36. Gráfico de Whisker del tamaño de genomas del *phylum* Actinobacteria con genes de rodopsina y sin dichos genes. Los genomas que contienen genes que codifican rodopsinas son significativamente más pequeños que los genomas que no las contienen.

Resumen de patrones encontrados en Actinobacteria

- Cerca del 20% de los genomas de bacterias del *phylum* Actinobacteria contienen genes de rodopsinas.
- El 86% de los genomas con genes de rodopsina de este grupo pertenece a bacterias aisladas de ambientes no salinos, por lo que, en Actinobacteria los genes de rodopsinas son más recurrentes en ambientes no marinos.
- En ambientes de hielo se identificó la mayor incidencia de genes de rodopsina con el 54% de los genomas, mientras que en agua dulce el 21% de los genomas tiene dichos genes.
- El tipo de rodopsina predominante en este grupo no es la PR, sino las XnRh.
- Los órdenes Micrococcales y Micromonosporales presentan una mayor incidencia de genes de rodopsina dentro de este *phylum*.

- Los genomas de bacterias con genes de rodopsinas en el orden Micromonosporales pertenecen mayormente a los ambientes marinos, mientras que bacterias con genes de rodopsinas en el orden Micrococcales son más predominantes en agua dulce y ambientes de hielo.
- Los genomas de bacterias del *phylum* Actinobacteria que contienen genes de rodopsina son significativamente más pequeños que los genomas que no presentan la función.

Capítulo 4. Discusión

4.1 Identificación de bacterias productoras de rodopsina aisladas en cultivo

Uno de los objetivos de este trabajo fue obtener nuevas cepas bacterianas productoras de rodopsinas en la cuenca del Sur de California. No se detectó la presencia de rodopsinas en ninguna de las 15 cepas bacterianas provenientes del Muelle de Scripps. Sin embargo, en BTS se aisló un mayor número de cepas (138 cepas), de las cuales se analizaron 79 (el 57%) mediante LC-MS, y el 10% de estas presentaron concentraciones detectables de retinal. En este sentido, la identificación de ocho aislados con rodopsina en BTS permite un primer acercamiento al estudio de la diversidad de bacterias con potencial fotoheterótrofo en esta zona. El resto de bacterias aisladas en la colección se podrá analizar en el futuro y podría ampliar aún más el número de cepas conocidas productoras de rodopsinas en BTS.

Se confirmó en un segundo análisis la presencia de rodopsinas en uno de los ocho aislados identificados con dicha función. Sin embargo, en algunos casos no se detectó la presencia de retinal en el segundo análisis. Por ejemplo, la cepa la BTS-1 presentó una concentración de retinal muy elevada en el primer análisis, mientras que en el segundo no se detectó. Estos hallazgos sugieren que las variaciones en cuanto al tiempo de incubación y la cantidad de cultivo que se concentra para obtener pastillas bacterianas, podrían influir en la concentración de retinal que se detecta en algunas cepas bacterianas.

Presencia de rodopsinas en el género *Vibrio*. El género *Vibrio* es el grupo taxonómico con mayor número de aislados productores de rodopsinas identificados en este trabajo. Los miembros de este género están muy representados en colecciones de cultivos ya que crecen fácilmente en condiciones de laboratorio (Ortigosa et al., 1989; Thompson et al., 2004). Así mismo, existen estudios que reportan gran abundancia de *Vibrios* en tejidos y órganos de diversas especies marinas como abulones, bivalvos, corales, peces, calamares, camarones, esponjas y zooplancton; por lo que se trata de un género muy versátil, ubicuo y con potencial patógeno (Arias et al., 1995; Gomez-Gil et al., 1998; Rosenberg y Ben-Haim, 2002; Sawabe et al., 2004; Tanaka et al., 2004). Además, *Vibrio* posee una gran diversidad genómica dada por eventos como mutaciones, arreglos cromosómicos, delección de genes y adquisición de otros mediante transferencia horizontal de genes; contribuyendo a la versatilidad metabólica y evolución de este género (Thompson et al., 2004). Algunos trabajos han reportado diferentes cepas de *Vibrio* sintetizadoras de PR como: *Vibrio* sp AND4 (Akram et. al, 2013; Gómez-Consarnau et al., 2010), *Vibrio campbellii* (Amaral et. al, 2012; Wang et. al, 2012), *Vibrio caribbeanecus* y *Vibrio harveyi* (Zhang et al., 2020). Estudios genómicos de estos grupos sugieren que algunos miembros de este género han obtenido genes de PR a través de

transferencia horizontal de genes, lo que podría modificar la fisiología y ecología de estas bacterias marinas (Gómez-Consarnau et al., 2010). Además, la estrategia fotoheterótrofa en estos grupos podría proporcionar una ventaja para la sobrevivencia cuando estos organismos se encuentran en estado de inanición o latencia en formas de vida libre en el mar (Gómez-Consarnau et al., 2010; Thompson et al., 2004).

Presencia de rodopsinas en el género *Morganella*. *Morganella morganii* es una especie bacteriana identificada como uno de los principales microorganismos responsables de intoxicación por histamina en peces, también llamada escombrototoxicosis (Veciana-Nogués et al., 2004). La intoxicación por histamina es una de las enfermedades más comunes de algunas especies marinas (Sumner et al., 2002). Su potencial patógeno en especies de interés económico como el atún (Becker et al., 2001) resalta la necesidad de estudiar su fisiología y el potencial fotoheterótrofo asociado a PR. Al igual que en otros géneros con potencial patógeno, en caso de confirmarse la presencia de rodopsinas en este aislado, *Morganella* podría obtener ventajas fisiológicas conferidas por rodopsinas en la luz para sobrevivir en estados no infectivos, es decir cuando escasean los nutrientes. Hasta hoy no existen estudios previos con cepas del género *Morganella* sintetizadoras de rodopsinas, por lo que éste sería el primer hallazgo donde se reporta una cepa de con rodopsinas en este género.

Presencia de rodopsinas en *Stakelama*. En este género se reportó la única cepa confirmada con presencia de rodopsinas en BTS. Sin embargo, el tipo de rodopsina identificada en esta cepa pertenece a las rodopsinas sensoriales, las cuales se clasifican en: Las rodopsinas sensoriales de tipo I (SR I) son utilizadas en algunas arqueas de ambientes hipersalinos para moverse hacia la luz y se han reportado en *Haloarchaea* y *Salinibacter ruber* (Hippler-Mreyen et al., 2003). Las rodopsinas sensoriales de tipo II (SR II), en contraste, son utilizadas para moverse hacia la oscuridad, por lo que también son llamadas phoborodopsinas, y solo han sido reportadas en *Haloarchaea* (Hippler-Mreyen et al., 2003). Las rodopsinas sensoriales de tipo III (SR III) son fotosistemas reportados principalmente en grupos de *Cyanobacteria*, *Cyanothece*, *Chroococciopsis*, *Gloeocapsa*, *Leptolyngbya*, y *Chamaesiphon* (Jung et al., 2003). Además, en eucariontes se ha reconocido otro tipo de rodopsina sensorial, enzimerodopsinas, las cuales son más complejas que las descritas anteriormente debido a la unión de péptidos específicos reconocidas en algunas algas y cianobacterias (Hegemann, 2008). Así, esta sería la primera evidencia de rodopsinas sensoriales en grupos del *phylum* Proteobacteria.

4.2 Identificación de patrones de distribución de genes de rodopsina en genomas de distintos grupos taxonómicos y ambientes acuáticos

Presencia de genes de rodopsina en los distintos *phyla*. La diversidad y abundancia de genomas de bacterias con rodopsinas aisladas en cultivo reportadas en este trabajo, contrasta con la reportada en diversos estudios de metagenómica de comunidades naturales (Dubinsky et al., 2017; Maresca et al., 2018; Olson et al., 2018; Sieradzki et al., 2018), dónde las bacterias del clado el SAR 11 son el grupo predominante. Si bien se ha reportado que Bacteroidetes (principalmente Flavobacteriales) (Gómez-Consarnau et al., 2007, 2016) y Actinobacteria (Sharma et al., 2008, 2009) también están presentes en ambientes acuáticos, su abundancia es menor con respecto a la de SAR 11. El clado bacteriano SAR11 incluye la cepa *Candidatus Pelagibacter ubique* (Giovannoni et al., 2005; Morris et al., 2002) y se clasifica dentro del grupo taxonómico Alphaproteobacteria. Las bacterias dentro de este clado, se consideran las más abundantes y por lo tanto las más exitosas en aguas superficiales de los océanos de todo el planeta (Giovannoni et al., 2005). En este trabajo, utilizando datos genómicos de bacterias cultivadas, se identificó que la diferencia entre la abundancia de Proteobacteria con rodopsinas es menor con respecto a los demás grupos (Bacteroidetes y Actinobacteria) (Figura 7). Incluso dentro del *phylum* Proteobacteria, la clase Gammaproteobacteria resulta más abundante en colecciones de cultivos que la clase Alphaproteobacteria, contrario a lo reportado en trabajos metagenómicos de comunidades bacterianas naturales (Dubinsky et al., 2017; Maresca et al., 2018; Olson et al., 2018; Sieradzki et al., 2018) (Figura 15).

El *phylum* Proteobacteria contiene el mayor número (no porcentaje) de genomas con genes de rodopsina identificados en este trabajo. Este grupo contiene bacterias con una enorme diversidad metabólica, incluyendo géneros patógenos como *Salmonella*, *Vibrio*, y *Neisseria* (Gupta, 2000). El nombre de este grupo hace alusión al dios griego *Proteus*, el cual, según la mitología podía cambiar de forma, lo cual está relacionado con la gran diversidad de formas celulares que se encuentran en este grupo. Además, también es uno de los grupos bacterianos más diversificado en cuanto a número de especies se refiere, sobre todo en las clases Alphaproteobacteria y Gammaproteobacteria (Gupta, 2000).

Por su parte, Bacteroidetes es el *phylum* que en este trabajo se identificó como el de mayor incidencia de genes de rodopsina (24.9% de los genomas) (Figura 9), lo que indica un gran potencial para futuros estudios de caracterización fisiológica. Miembros del grupo Bacteroidetes están ampliamente distribuidos en distintos ambientes, y son capaces de colonizar suelo, sedimentos, agua de mar, tracto digestivo, etc. (Gherna y Woese, 1992).

En cuanto a los genomas con genes de rodopsina pertenecientes al *phylum* Actinobacteria, en este trabajo se encontraron con mayor proporción en ambientes no salinos, como el hielo y agua dulce. Se han caracterizado como bacterias Gram positivas, muy abundantes sobre todo en sistemas terrestres donde tienen una estrecha relación con la degradación de materia orgánica como celulosa y quitina (Barka et al., 2016).

Presencia de distintos genes de rodopsina en los ambientes acuáticos. Los genes de PR se identificaron en todos los ambientes, aunque los genes de este tipo de rodopsina predominan en el mar (presentes en más del 60% de los genomas reportados). Esto confirma hallazgos reportados en otros estudios (Béjà et al., 2000; Finkel et al., 2012; Gómez-Consarnau et al., 2019; Sharma et al., 2006; Atamna-Ismaeel et al., 2012; Koh et al., 2010; Pinhassi et al., 2016; Giovannonni et al., 2005), y reafirma la ubicuidad de las PR (Boeuf et al., 2015; Olson et al., 2018). Por su parte, los genes que codifican rodopsinas del tipo XnRh también se identificaron en todos los ambientes acuáticos, aunque fueron más abundantes en ambientes no salinos, como el hielo y agua dulce, principalmente en miembros del *phylum* Actinobacteria. Este tipo de rodopsina se caracteriza porque en su estructura cuenta con un carotenoide, la silinixantina, además del retinal. Este carotenoide actúa como pigmento antena, que expande el rango de longitudes de onda que pueden ser absorbidas por la rodopsina (de los 470 a los 520 nm; Imasheva et al., 2008).

Presencia de genes de rodopsina en genomas de bacterias aisladas de distintos ambientes. La mayoría de los genomas de bacterias con genes de rodopsina en los *phyla* Proteobacteria y Bacteroidetes fueron aislados de ambientes marinos (66.6% y 61.7% respectivamente). Sin embargo, los genomas de bacterias con genes de rodopsina del *phylum* Actinobacteria se aislaron en su mayoría (80%) de ambientes no salinos, 47.2% en ambientes de hielo y el 30.9% en agua dulce (Figura 10). Además, aunque Actinobacteria presentó mayor incidencia de genes de rodopsina de tipo XnRh, en muchos de sus miembros se ha reportado otro tipo de rodopsinas llamadas Actinorodopsinas (Sharma et al., 2008). En este trabajo se intentó demostrar la presencia de actinorodopsinas en genomas de este *phylum* mediante HMM implementados en el programa *Hammer*, en donde se utilizaron diez secuencias de referencia de actinorodopsinas (usadas en Sharma et al, 2009), y diez secuencias depositadas en bases de datos del NCBI reportadas como *bacteriorhodopsins* y que pertenecen a Actinobacteria (Tabla 12 de anexos). Sin embargo, no se logró establecer un modelo confiable que permita identificar y clasificar correctamente el subgrupo de las actinorodopsinas mediante estas herramientas debido a la baja especificidad del modelo y la baja cantidad de secuencias utilizadas. Sin embargo, resulta difícil obtener secuencias de actinorodopsinas confiables que estén reportadas correctamente en las bases de datos, tal como lo sugiere Sharma et al. (2008). “Es probable que ningún sistema de nomenclatura sea coherente con todos

estos parámetros, y no afirmamos que las actinorodopsinas sean identificables de forma inequívoca” (p.1052). En cualquier caso, nuestros hallazgos sugieren que las rodopsinas en Actinobacteria son predominantes en ambientes acuáticos no salinos como glaciares, y cuerpos de agua dulce, al menos en bacterias cultivables, reafirmando lo establecido por Sharma y colaboradores en 2008.

Tamaño de genomas con relación a la presencia de genes de rodopsina. El tamaño de los genomas de bacterias con genes de rodopsina es significativamente más pequeño que el de bacterias sin dichos genes. Esto sugiere que la capacidad fotoheterótrofa podría estar relacionada con la eliminación de genes prescindibles (ADN “repetitivo” o no codificante), confiriendo una mejor optimización energética, tal como sugiere Giovannoni y colaboradores en 2005. En este sentido, sintetizar solo complejos necesarios para el metabolismo y sobrevivencia siguiendo una estrategia de vida *low cost*, aunado a la capacidad de obtener energía de una fuente alternativa, podría significar en organismos fotoheterótrofos una mayor eficiencia metabólica y/o adquirir ventajas competitivas (Gómez-Consarnau et al., 2019; Steindler et al., 2011). Sin embargo, este diferencial en cuanto al tamaño de los genomas, no se observó en miembros del *phylum* Bacteroidetes.

Capítulo 5. Conclusiones

En este trabajo se reportan ocho cepas potencialmente productoras de rodopsinas, pertenecientes a los géneros *Vibrio*, *Morganella*, *Stakelama* y *Stenotrophomonas*. Solo en un aislado (BTS-27) se confirmó la presencia de retinal y, por lo tanto, la de rodopsinas. Además, se establece la primera evidencia de rodopsinas sensoriales presentes en grupos del *phylum* Proteobacteria (*S. pacífica*), lo que resalta la necesidad de realizar estudios de caracterización fisiológica, que permitan esclarecer el papel que juegan estas moléculas en dicho organismo. A su vez, en caso de que se confirme la presencia de rodopsinas en el resto de aislados potenciales, se incrementaría la diversidad conocida hasta ahora de bacterias con estrategia fotoheterótrofa en sistemas productivos como el SCC. Además, también significaría el primer hallazgo de cepas con rodopsinas dentro del género *Morganella*.

Mediante el análisis genómico de bacterias en cultivo realizado en este trabajo se identificaron patrones de abundancia distintos a los reportados en estudios metagenómicos con comunidades naturales. Las bacterias cultivables representan solo una pequeña porción de la diversidad total que existe en los sistemas marinos, tienen características distintas a las no cultivables, y suelen tener genomas de mayor tamaño que contribuyen a su versatilidad metabólica. En estos casos, una fuente de energía alternativa como luz podría ser menos relevante en sus metabolismos, de ahí su menor incidencia en genomas de bacterias cultivables (10%) comparado con genomas del bacterioplancton natural (en los que el 80% de los genomas tiene genes de rodopsina). Aun así, contar con diversas cepas bacterianas aisladas con capacidad de producir rodopsinas, permite su estudio y caracterización fisiológica, contribuyendo al entendimiento de las estrategias metabólicas asociadas a la utilización de la luz solar como fuente de energía, y aportando información que permita esclarecer su papel ecológico en una escala global. A su vez, la detección de ciertos patrones de distribución en los grupos taxonómicos y ambientes acuáticos con mayor incidencia de estos metabolismos, ayudará a entender su funcionamiento en distintos entornos, su éxito evolutivo y su papel ecológico en cada ambiente.

5.1 Perspectivas

Es necesario continuar explorando la distribución de bacterias con rodopsinas en distintos ambientes acuáticos, lo cual incrementaría la diversidad conocida. A su vez, es necesario actualizar la diversidad y reservorios genómicos que permitan el acceso a datos y secuencias genómicas confiables.

La búsqueda de secuencias confiables de rodopsinas específicas como Actinorodopsinas y Heliorodopsinas permitiría elaborar HMMs confiables que permitan identificar y diferenciar con certeza este y otros tipos de rodopsinas presentes en distintas bacterias y ambientes.

El estudio y caracterización fisiológica de bacterias cultivables es todavía muy limitado, y si bien estas cepas representan solo una pequeña porción de la diversidad total que existe, permitirían entender su función en cada uno de los ambientes acuáticos que habitan.

En este trabajo, queda por analizar más del 50% de los aislados obtenidos en BTS, por lo que aún se podría incrementar el número de cepas productoras de rodopsinas identificadas en esta zona. A su vez, queda por confirmar la presencia de rodopsinas en siete de los aislados reportados que, en caso de confirmarse quedan disponibles para estudios de caracterización fisiológica en el futuro. Además, existen 235 cepas bacterianas con genes de rodopsina de en la base de datos genómica del IMG, y aun no se dispone de caracterizaciones fisiológicas para la mayoría de ellas.

Aunque las rodopsinas que funcionan como bombas de protones (PR) predominan en los sistemas marinos, el hallazgo de rodopsinas sensoriales por primera vez en bacterias (como la cepa BTS 27 obtenida en este trabajo) permitirá caracterizar la fisiología relacionada con esta función en el futuro.

Literatura citada

- Amaral, G. R. S., Silva, B. S. D. O., Santos, E. O., Dias, G. M., Lopes, R. M., Edwards, R. A., & Thompson, F. L. 2012. Genome sequence of the bacterioplanktonic, mixotrophic *Vibrio campbellii* strain PEL22A, isolated in the Abrolhos Bank. DOI: 10.1128/JB.00377-12
- Arias, C. R., Garay, E., Aznar, R. 1995. Nested PCR Method for Rapid and Sensitive Detection of *Vibrio vulnificus* in Fish, Sediments, and Water. En *Applied and environmental microbiology* (Vol. 61). de <http://aem.asm.org/>
- Atamna-Ismaeel, N., Finkel, O. M., Glaser, F., Sharon, I., Schneider, R., Post, A. F., Spudich, J. L., von Mering, C., Vorholt, J. A., Iluz, D., Béjà, O., Belkin, S. 2012. Microbial rhodopsins on leaf surfaces of terrestrial plants. *Environmental Microbiology*, 14(1), 140–146. doi:10.1111/j.1462-2920.2011.02554.x
- Atamna-Ismaeel, N., Sabehi, G., Sharon, I., journal, K. W.-... I., 2008, undefined. s/f. Widespread distribution of proteorhodopsins in freshwater and brackish ecosystems. *nature.com*. Recuperado de: <https://www.nature.com/articles/ismej200827>
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J. P., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., van Wezel, G. P. 2016. Correction for Barka et al., *Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(4), iii–iii. doi:10.1128/membr.00044-16
- Becker, K., Southwick, K., Reardon, J., Berg, R., MacCormack, J. N. 2001. Histamine poisoning associated with eating tuna burgers. *Journal of the American Medical Association*, 285(10), 1327–1330. doi:10.1001/jama.285.10.1327
- Beja, O., Aravind, L., Koonin, E. V., Suzuki, M. T., Hadd, A., Nguyen, L. P., Jovanovich, S. B., Gates, C. M., Feldman, R. A., Spudich, J. L., Spudich, E. N., DeLong, E. F. 2000. Bacterial rhodopsin: Evidence for a new type of phototrophy in the sea. *Science*, 289(5486), 1902–1906. doi:10.1126/science.289.5486.1902
- Bielawski, J. P., Dunn, K. A., Sabehi, G. & Béja... - Google Académico. s/f. Consultado el 1 de julio de 2020, Recuperado de: https://scholar.google.com/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Bielawski%2C+J.+P.%2C+Dunn%2C+K.+A.%2C+Sabehi%2C+G.+%26+Béja+%60%2C+O.+Darwinian+adaptation+of+proteo+rhodopsin+to+different+light+intensities+in+the+marine+environment.+Proc.Natl+Acad.+Sci.+USA+101%2C+14824-14829+%282004%29.&btnG=
- Bielawski, J. P., Dunn, K. A., Sabehi, G., Bé, O. 2004. Darwinian adaptation of proteorhodopsin to different light intensities in the marine environment. En *National Acad Sciences*. Recuperado de: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0403999101
- Boeuf, D., Audic, S., Brillet-Guéguen, L., Database, C. C.-, 2015, undefined. s/f. MicRhoDE: a curated database for the analysis of microbial rhodopsin diversity and evolution. *academic.oup.com*. Recuperado de: <https://academic.oup.com/database/article-abstract/doi/10.1093/database/bav080/2433213>
- Bogomolni, R. A., Spudicht, J. L. 1982. Identification of a third rhodopsin-like pigment in phototactic *Halobacterium halobium* (sensory behavior/retinal pigments/cyclic photoreactions/ion transport mutants). En *Proc. Natt.Acad. Sci. USA*.(Vol..79). Recuperado de: <https://www.pnas.org/content/79/20/6250.short>
- Carini, P. 2019. A Cultural Renaissance: Genomics Breathes New Life into an Old Craft. En *Am Soc Microbiol*. <https://doi.org/10>

- DeLong, E. F., Karl, D. M. 2005. Genomic perspectives in microbial oceanography. *Nature*, 437(7057), 336–342. doi:10.1038/nature04157
- Dubinsky, V., Haber, M., Burgsdorf, I., Saurav, K., Lehahn, Y., Malik, A., Sher, D., Aharonovich, D., Steindler, L. 2017. Metagenomic analysis reveals unusually high incidence of proteorhodopsin genes in the ultraoligotrophic Eastern Mediterranean Sea. *Environmental Microbiology*, 19(3), 1077–1090. doi:10.1111/1462-2920.13624
- Ducklow, H., Kirchman, D. L. 2000. Bacterial Production and Biomass in the Oceans. En researchgate.net. de <https://www.researchgate.net/publication/200146569>
- Ernst, O. P., Lodowski, D. T., Elstner, M., Hegemann, P., Brown, L. S., Kandori, H. 2013. Microbial and Animal Rhodopsins: Structures, Functions, and Molecular Mechanisms. ACS Publications, 114(1), 126–163. doi:10.1021/cr4003769
- Fenchel, T., Field, J. G., Prog, S., Azam, F., Fenchel, T., Field, J. G., Gra, J. S., Meyer-Reil, L. A., Thingstad, F. 1983. The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea Placing Marine Mixotrophs in Context View project Domaine View project Marine ecology-progress series The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea*. JSTOR, 10, 257–263. doi:10.3354/meps010257
- Feng, S., Powell, S. M., Wilson, R., Bowman, J. P. 2013. Light-stimulated growth of proteorhodopsin-bearing sea-ice psychrophile *Psychroflexus torquis* is salinity dependent. *ISME Journal*, 7(11), 2206–2213. doi:10.1038/ismej.2013.97
- Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T., Falkowski, P. s/f. Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components. En science.sciencemag.org. Recuperado de: <http://science.sciencemag.org/>
- Finkel, O., Béja, O., journal, S. B.-T. I., 2013, undefined. s/f. Global abundance of microbial rhodopsins. nature.com. de <https://www.nature.com/articles/ismej2012112>
- Flemming, H. C., Wuertz, S. 2019. Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 17(4), 247–260. doi:10.1038/s41579-019-0158-9
- Franklin, M. P., McDonald, I. R., Bourne, D. G., Owens, N. J. P., Upstill-Goddard, R. C., Murrell, J. C. 2005. Bacterial diversity in the bacterioneuston (sea surface microlayer): The bacterioneuston through the looking glass. *Environmental Microbiology*, 7(5), 723–736. doi:10.1111/j.1462-2920.2004.00736.x
- Frigaard, N.-U., Martinez, A., Mincer, T. J., DeLong, E. F. 2006. Proteorhodopsin lateral gene transfer between marine planktonic Bacteria and Archaea. nature.com. doi:10.1038/nature04435
- Giovannoni, S. J., Bibbs, L., Cho, J. C., Stapels, M. D., Desiderio, R., Vergin, K. L., Rappé, M. S., Laney, S., Wilhelm, L. J., Tripp, H. J., Mathur, E. J., Barofsky, D. F. 2005. Proteorhodopsin in the ubiquitous marine bacterium SAR11. *Nature*, 438(7064), 82–85. doi:10.1038/nature04032
- Giovannoni, S. J., Tripp, H. J., Givan, S., Podar, M., Vergin, K. L., Baptista, D., Bibbs, L., Eads, J., Richardson, T. H., Noordewier, M., Rappé, M. S., Short, J. M., Carrington, J. C., Mathur, E. J. 2005. Genetics: Genome streamlining in a cosmopolitan oceanic bacterium. *Science*, 309(5738), 1242–1245. doi:10.1126/science.1114057
- Gómez-Consarnau, L., Akram, N., Lindell, K., Pedersen, A., Neutze, R., Milton, D. L., González, J. M., Pinhassi, J. 2010. Proteorhodopsin phototrophy promotes survival of marine bacteria during starvation. *PLoS Biology*, 8(4). doi:10.1371/journal.pbio.1000358
- Gómez-Consarnau, L., González, J. M., Coll-Lladó, M., Gourdon, P., Pascher, T., Neutze, R., Pedrós-Alió, C.,

- Pinhassi, J. 2007. Light stimulates growth of proteorhodopsin-containing marine Flavobacteria. *Nature*, 445(7124), 210–213. doi:10.1038/nature05381
- Gómez-Consarnau, L., González, J. M., Riedel, T., Jaenicke, S., Wagner-Döbler, I., Sañudo-Wilhelmy, S. A., Fuhrman, J. A. 2016. Proteorhodopsin light-enhanced growth linked to vitamin-B 1 acquisition in marine Flavobacteria. *ISME Journal*, 10(5), 1102–1112. doi:10.1038/ismej.2015.196
- Gómez-Consarnau, L., Raven, J. A., Levine, N. M., Cutter, L. S., Wang, D., Seegers, B., Arístegui, J., Fuhrman, J. A., Gasol, J. M., Sañudo-Wilhelmy, S. A. 2019. Microbial rhodopsins are major contributors to the solar energy captured in the sea. *Science Advances*, 5(8), 1–8. doi:10.1126/sciadv.aaw8855
- Gomez-Gil, B., Tron-Mayen, L., Roque, A., Turnbull, J. F., Inglis, V., Guerra-Flores, A. L. 1998. Effect of dietary protein on the gut microbiota of aquatic animals View project Bacterial fish pathogens to tilapia and marine fish View project Species of *Vibrio* isolated from hepatopancreas, haemolymph and digestive tract of a population of healthy juvenile *Penaeus* *O*annamei. *Aquaculture*, 163, 1–9. doi:10.1016/S0044-8486(98)00162-8
- González, J. M., Fernández-Gómez, B., Fernández-Guerra, A., Gómez-Consarnau, L., Sánchez, O., Coll-Lladó, M., Del Campo, J., Escudero, L., Rodríguez-Martínez, R., Alonso-Sáez, L., Latasa, M., Paulsen, I., Nedashkovskaya, O., Lekunberri, I., Pinhassi, J., Pedrós-Alió, C. 2008. Genome analysis of the proteorhodopsin-containing marine bacterium *Polaribacter* sp. MED152 (Flavobacteria). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(25), 8724–8729. doi:10.1073/pnas.0712027105
- Gruber, N., Sarmiento, J. 2002. *The Sea: Biological-Physical Interactions in the Ocean* (eds Robinson, AR, McCarthy, JJ & Rothschild, BJ) Vol. 12, 337–399.
- Gupta, R. S. 2000. The phylogeny of proteobacteria: Relationships to other eubacterial phyla and eukaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(4), 367–402. doi:10.1016/S0168-6445(00)00031-0
- Hegemann, P. 2008. Algal Sensory Photoreceptors. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 167–189. doi:10.1146/annurev.arplant.59.032607.092847
- Jung, K. H., Trivedi, V. D., Spudich, J. L. 2003. Demonstration of a sensory rhodopsin in eubacteria. *Molecular Microbiology*, 47(6), 1513–1522. doi:10.1046/j.1365-2958.2003.03395.x
- Keren, N., Kidd, M. J., Penner-Hahn, J. E., Pakrasi, H. B. 2002. A light-dependent mechanism for massive accumulation of manganese in the photosynthetic bacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochemistry*, 41(50), 15085–15092. doi:10.1021/bi026892s
- Koh, E. Y., Atamna-Ismaeel, N., Martin, A., Cowie, R. O. M., Beja, O., Davy, S. K., Maas, E. W., Ryan, K. G. 2010. Proteorhodopsin-bearing bacteria in Antarctic sea ice. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(17), 5918–5925. doi:10.1128/AEM.00562-10
- Kolber, Z., Lee, C., Dover, V., Falkowski, P. 2000. *Deep-Sea Biodiversity and Community Ecology Studies* View project *Managing Impacts of Deep-sea Resource exploitation (MIDAS)* View project. *nature.com*. doi:10.1038/35025044
- Lauro, F. M., McDougald, D., Thomas, T., Williams, T. J., Egan, S., Rice, S., DeMaere, M. Z., Ting, L., Ertan, H., Johnson, J., Ferriera, S., Lapidus, A., Anderson, I., Kyrpides, N., Munkf, A. C., Detterg, C., Hang, C. S., Brown, M. V., ... Cavicchioli, R. 2009. The genomic basis of trophic strategy in marine bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(37), 15527–15533. doi:10.1073/pnas.0903507106
- Lynn, R. J., Simpson, J. J. 1987. *The California Current system: The seasonal variability of its physical*

- characteristics. *Journal of Geophysical Research*, 92(C12), 12947. doi:10.1029/jc092ic12p12947
- Maresca, J. A., Miller, K. J., Keffer, J. L., Sabanayagam, C. R., Campbell, B. J. 2018. Distribution and diversity of rhodopsin-producing microbes in the Chesapeake Bay. *Applied and environmental microbiology*, 84(13), 1–18. doi:10.1128/AEM.00137-18
- McCarren, J., DeLong, E. F. 2007. Proteorhodopsin photosystem gene clusters exhibit co-evolutionary trends and shared ancestry among diverse marine microbial phyla. *Environmental Microbiology*, 9(4), 846–858. doi:10.1111/j.1462-2920.2006.01203.x
- Morris, R., Rappé, M., Connon, S., Nature, K. V.-, 2002, undefined. s/f. SAR11 clade dominates ocean surface bacterioplankton communities. *nature.com*. Recuperado de: <https://www.nature.com/articles/nature01240?free=2>
- Oesterhelt, D., Stoekenius, W. 1971. Rhodopsin-like protein from the purple membrane of *Halobacterium halobium*. *Nature New Biology*, 233(39), 149–152. doi:10.1038/newbio233149a0
- Olson, D. K., Yoshizawa, S., Boeuf, D., Iwasaki, W., DeLong, E. F. 2018. Proteorhodopsin variability and distribution in the North Pacific Subtropical Gyre. *ISME Journal*, 12(4), 1047–1060. doi:10.1038/s41396-018-0074-4
- Ortigosa, M., Esteve, C., *microbiology, M. P.-S. and applied*, 1989, undefined. s/f. *Vibrio* species in seawater and mussels: abundance and numerical taxonomy. Elsevier. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0723202089800803/pdf?md5u003d044fd422fab3edb758237fc7b3b68093u0026pidu003d1-s2.0-S0723202089800803-main.pdf>
- Pinhassi, J., DeLong, E. F., Bèjà, O., González, J. M., Pedrós-Alió, C. 2016. Marine Bacterial and Archaeal Ion-Pumping Rhodopsins: Genetic Diversity, Physiology, and Ecology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(4), 929–954. doi:10.1128/membr.00003-16
- Pushkarev, A., Inoue, K., Laram, S., Nature, J. F.-U.-, 2018, undefined. s/f. A distinct abundant group of microbial rhodopsins discovered using functional metagenomics. *nature.com*. de <https://www.nature.com/articles/s41586-018-0225-9>
- Quinn, P. J., Gregory, R. P. F., Wiley, J. 1977. *Biochemistry of Photosynthesis (2nd ed) (Vol. 83)*. de <https://vopm.pw/1593752728.pdf>
- Rosenberg, E., Ben-Haim, Y. 2002. Microbial diseases of corals and global warming. *Environmental Microbiology*, Vol. 4. doi:10.1046/j.1462-2920.2002.00302.x
- Sabehi, G., Bèjà, O., ... M. S.-E., 2004, undefined. s/f. Different SAR86 subgroups harbour divergent proteorhodopsins. *Wiley Online Library*. Recuperado de: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1462-2920.2004.00676.x>
- Sabehi, G., Bèjà, O., Suzuki, M. T., Preston, C. M., DeLong, E. F. 2004. Different SAR86 subgroups harbour divergent proteorhodopsins. *Environmental Microbiology*, 6(9), 903–910. doi:10.1111/j.1462-2920.2004.00676.x
- Sawabe, T., Hayashi, K., Moriwaki, J., Thompson, F. L., Swings, J., Potin, P., Christen, R., Ezura, Y. 2004. *Vibrio gallicus* sp. nov., isolated from the gut of the French abalone *Haliotis tuberculata*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(3), 843–846. doi:10.1099/ij.s.0.02804-0
- Sharma, A. K., Zhaxybayeva, O., Papke, R. T., Doolittle, W. F. 2008. Actinorhodopsins: proteorhodopsin-like gene sequences found predominantly in non-marine environments. *Environmental Microbiology*, 10(4), 1039–1056. doi:10.1111/j.1462-2920.2007.01525.x

- Sharma, A., Sommerfeld, K., ... G. B.-T. I., 2009, undefined. s/f. Actinorhodopsin genes discovered in diverse freshwater habitats and among cultivated freshwater Actinobacteria. nature.com. Recuperado de: <https://www.nature.com/articles/ismej200913>
- Shiba, T., Simidu, U., Taga, N. 1979. Distribution of Aerobic Bacteria Which Contain Bacteriochlorophyll a. En Applied and Environmental Microbiology. Recuperado de: <http://aem.asm.org/>
- Sieradzki, E. T., Fuhrman, J. A., Rivero-Calle, S., Gómez-Consarnau, L. 2018. Proteorhodopsins dominate the expression of phototrophic mechanisms in seasonal and dynamic marine picoplankton communities. PeerJ, 2018(10). doi:10.7717/peerj.5798
- Spudich, J. L., Yang, C.-S., Jung, K.-H., Spudich, E. N. 2000. Retinylidene Proteins: Structures and Functions from Archaea to Humans. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 16(1), 365–392. doi:10.1146/annurev.cellbio.16.1.365
- Steindler, L., Schwalbach, M. S., Smith, D. P., Chan, F., Giovannoni, S. J. 2011. Energy starved candidatus pelagibacter ubique substitutes light-mediated ATP production for endogenous carbon respiration. PLoS ONE, 6(5), 1–10. doi:10.1371/journal.pone.0019725
- Stingl, U., Desiderio, R. A., Cho, J. C., Vergin, K. L., Giovannoni, S. J. 2007. The SAR92 clade: An abundant coastal clade of culturable marine bacteria possessing proteorhodopsin. Applied and Environmental Microbiology, 73(7), 2290–2296. doi:10.1128/AEM.02559-06
- Sumner, J., Microbiology, T. R.-I. J. of F., 2002, undefined. s/f. A semi-quantitative seafood safety risk assessment. Elsevier. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160502000624>
- Tanaka, R., Sawabe, T., Setoguchi, N., Inoue, S., Ootsubo, M., Yoshimizu, M., Ezura, Y. s/f. Acetic acid production of *Vibrio haliotocoli* from alginate: A possible role for establishment of abalone-*V. haliotocoli* association Acetic acid production of *Vibrio haliotocoli* from alginate: a possible role for establishment of abalone-*V. haliotocoli* association PII: S 0 0 4 4-8 4 8 6 (0 2) 0 0 6 1 8-X. Elsevier. doi:10.1016/S0044-8486(02)00618-X
- Thompson, F. L., Iida, T., Swings, J. 2004. Biodiversity of Vibrios. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 68(3), 403–431. doi:10.1128/membr.68.3.403-431.2004
- Veciana-Nogués, M. T., Bover-Cid, S., Mariné-Font, A., Vidal-Carou, M. C. 2004. Biogenic amine production by *Morganella morganii* and *Klebsiella oxytoca* in tuna. European Food Research and Technology, 218(3), 284–288. doi:10.1007/s00217-003-0860-7
- Venter, J. C., Remington, K., Heidelberg, J. F., Halpern, A. L., Rusch, D., Eisen, J. A., Wu, D., Paulsen, I., Nelson, K. E., Nelson, W., Fouts, D. E., Levy, S., Knap, A. H., Lomas, M. W., Nealson, K., White, O., Peterson, J., Hoffman, J., ... Smith, H. O. s/f. Environmental Genome Shotgun Sequencing of the Sargasso Sea. En science.sciencemag.org. Recuperado de: <http://science.sciencemag.org/>
- Vershinin, A. 1999. Biological functions of carotenoids - Diversity and evolution. En BioFactors, 1999, IOS Press, 10(2–3), pp. 99–104. doi:10.1002/biof.5520100203
- Yoshizawa, S., Kumagai, Y., Kim, H., Ogura, Y., Hayashi, T., Iwasaki, W., DeLong, E. F., Kogure, K. 2014. Functional characterization of flavobacteria rhodopsins reveals a unique class of light-driven chloride pump in bacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 111(18), 6732–6737. doi:10.1073/pnas.1403051111
- Zhang, X.-H., He, X., Austin, B. 2020. *Vibrio harveyi*: a serious pathogen of fish and invertebrates in mariculture. Marine Life Science & Technology, 2(3), 231–245. doi:10.1007/s42995-020-00037-z

Anexos

Tabla 3. Descripción de aislados de la colección obtenida en Bahía Todos Santos

Cepa	Placa original	Color	Tamaño	Fecha siembra	Otros
BTS-1	E3, Chla, Directo	Amarillo-Beige	5 mm	19/09/2019	Semitransparente, halo trasparente, un poco más oscura al centro, muy abundante en placa
BTS-2	E3, Chla, Directo	Blanco-beige-gris	4 mm	19/09/2019	Halo trasparente, colonia semitransparente, no muy abundante en placa
BTS-3	E3, Chla, Directo	Amarillo huevo	1 mm	19/09/2019	No muy abundante en placa
BTS-4	E3, Chla, Directo	Blanco-beige	1 mm	19/09/2019	Colonia redonda, opaca, sin halo, color homogéneo
BTS-5	E3, Chla, Directo	Blanco-beige	1 mm	19/09/2019	Colonia redonda, la más abundante, abultada
BTS-6	E3, Chla, 1:10	Naranja-amarillo	4 mm	19/09/2019	Colonia redonda, irregular, más opaca y abultada, única en placa
BTS-7	E3, Chla, 1:10	Beige-carne	13 mm	19/09/2019	Redonda, un poco irregular, sin halo, color homogéneo, opaca, única en placa
BTS-9	E3, Chla, 1:10	Beige	5mm	19/09/2019	Redonda, con halo alrededor, abultada, semi trasparente, varias colonias en la placa
BTS-10	E3, Chla, 1:100	Naranja	15 mm	19/09/2019	Muy irregular en su forma, más clara hacia afuera
BTS-11	E3, Chla, 1:100	Beige-Durazno	15 mm	19/09/2019	Colonia irregular, semi trasparente a la orilla, muy abundante en placa
BTS-12	E3, Chla, 1:100	Naranja	7 mm	19/09/2019	Redonda, con color más claro a la orilla, única en placa
BTS-13	E3, Chla, 1:100	Blanco- Gris	7 mm	19/09/2019	Redonda con anillo más blanco que la rodea
BTS-14	E3, SML, Directo	Rosado	7 mm	19/09/2019	Colonia redonda de color vivo, bien definida, brillante, dos en placa
BTS-15	E3, SML, Directo	Durazno-crema	10 mm	19/09/2019	Colonia redonda, con halo más trasparente alrededor, punto más naranja al centro, abundante en placa
BTS-16	E3, SML, Directo	Carne	7 mm	19/09/2019	Colonia redonda, dos halos al contorno, uno más trasparente y otro más colorido, abundante en placa
BTS-17	E3, Superficie, Directo	Amarillo -naranja	5 mm	19/09/2019	Redonda, sin contorno definido, con bordes a la orilla, escasa en placa
BTS-18	E3, Superficie, Directo	Beige. Carne	6 mm	19/09/2019	Redonda, sin contorno definido
BTS-19	E3, Superficie, Directo	Naranja opaco	3 mm	19/09/2019	Redonda, con halo alrededor, escasa en placa

BTS-20	E3, Superficie, Directo	Amarillo huevo	2 mm	19/09/2019	Redonda, brillante, única en placa
BTS-21	E3, Superficie, Directo	Rosa	1 mm	19/09/2019	Redonda, sin contorno definido, casi trasparente
BTS-22	E3, Superficie, Directo	Amarillo	< 1mm	19/09/2019	Redonda, muy pequeña con contorno trasparente
BTS-23	E3, Superficie, Directo	Amarillo canario	1 mm	19/09/2019	Redonda con contorno definido, única en placa
BTS-24	E2, SML, 1:100	Durazno	9mm	19/09/2019	Redonda, sin contorno definido, un punto naranja al centro
BTS-25	E2, SML, 1:100	Rosada	6 mm	19/09/2019	Redonda, brillante, sin contorno definido
BTS-26	E2, Chla, 1:100	Amarillento	14 mm	19/09/2019	Sin forma definida, única en placa
BTS-27	E2, Chla, 1:100	Amarilla	10 mm	19/09/2019	Redonda, homogénea, brillante
BTS-28	E1, Chla, 1:100	Naranja fosforescente	6 mm	19/09/2019	Color muy vivo, sin forma definida, única en placa
BTS-29	E1, Superficie, 1:10	Beige- carne	12 mm	19/09/2019	Redonda, sin contorno definido, orilla trasparente, única en placa
BTS-30	E1, Superficie, 1:10	Durazno- carne	1 mm	19/09/2019	Ovalada, sin contorno definido, brillante, única en placa
BTS-31	E1, Superficie, 1:10	Durazno- naranja	6 mm	19/09/2019	Redonda con anillo que la rodea, punto más naranja al centro, única en placa
BTS-32	E1, SML, Directo	Beige- café	6 mm	19/09/2019	Redonda, Contorno trasparente, orilla no definida, única en placa, opaca
BTS-33	E1, SML, Directo	Beige- café	5 mm	19/09/2019	Redonda, brillante, escasa en placa
BTS-34	E1, SML, Directo	Carne	5 mm	19/09/2019	Redonda, anillada, única en placa
BTS-35	E1, SML, Directo	Amarillo- naranja	1 mm	19/09/2019	Redonda, sin contorno definido, colores vivos
BTS-36	E1, Chla, 1:10	Carne- naranja	11 mm	19/09/2019	Redonda, sin contorno definido, única en placa
BTS-37	E1, Chla, 1:10	Café- beige	3 mm	19/09/2019	Redonda, brillante, única en placa
BTS-38	E1, Chla, 1:10	Blanca	5 mm	19/09/2019	Redonda, bien definida, brillante, abultada, única en placa
Siembra después de dos semanas de exposición a la luz					
BTS-39	E1, Superficie, Directo	Blanca	5 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, bien definida, la más abundante en placa
BTS-40	E1, Superficie, Directo	beige-gris	1 mm	06/10/2019	Redonda 2da colonia más abundante en placa

BTS-41	E1, Superficie, 1:10	Beige-gris	6 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, bien definida, abundante en placa
BTS-42	E1, Superficie, 1:10	Beige-gris	8 mm	06/10/2019	Redonda, sin contorno definido, concentrada al centro, brillante, abundante en placa
BTS-43	E1, Superficie, 1:10	Amarillo canario	< 1mm	06/10/2019	Redonda, muy escasa en placa
BTS-44	E1, Superficie, 1:10	Naranja	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, muy escasa en placa
BTS-45	E1, Superficie, 1:10	Blanca	1 mm	06/10/2019	Redonda, abundante en placa, brillante
BTS-46	E1, Superficie, 1:10	Beige-carne	5 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, abundante en placa
BTS-47	E1, Superficie, 1:10	Blanca con verde	5 mm	06/10/2019	Redonda, blanca al centro con anillo verde alrededor, 2 en placa
BTS-48	E1, Superficie, 1:10	Durazno-carne	<1 mm	06/10/2019	Redonda, con anillos transparente alrededor, muy escasa en placa
BTS-49	E1, Chla, Directo	Blanca-gris	6 mm	06/10/2019	Redonda, sin contorno definido, muy abundante en placa
BTS-50	E1, Chla, Directo	Blanco	1 mm	06/10/2019	Redonda, abundante en placa, abultada
BTS-51	E1, Chla, Directo	Amarillo	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, escasa en placa
BTS-52	E1, Chla, 1:10	Beige-gris	6 mm	06/10/2019	Redonda, sin contorno definido, muy abundante en placa
BTS-53	E1, Chla, 1:10	Blanca	1 mm	06/10/2019	Redonda, abundante en placa
BTS-54	E1, Chla, 1:10	Gris- transparente	5 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, halo transparente alrededor, escasa en placa
BTS-55	E1, Chla, 1:10	Beige-durazno	5 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, abultada, bien definida, escasa en placa
BTS-56	E1, Chla, 1:10	Naranja- amarillo	2 mm	06/10/2019	Redonda, abundante en placa
BTS-57	E1, SML, 1:10	Blanco-gris	6 mm	06/10/2019	Redonda, sin contorno definido
BTS-58	E1, SML, 1:10	Durazno-beige	1 mm	06/10/2019	Redonda, bien definida, abundante en placa
BTS-59	E1, SML, 1:10	Blanca	1 mm	06/10/2019	Redonda, bien definida, abundante en placa
BTS-60	E1, SML, 1:10	Amarillo	1 mm	06/10/2019	Redonda, sin contorno definido, muy escasa en placa
BTS-61	E2, Superficie, Directo	Gris- transparente	4 mm	06/10/2019	Redonda, abundante en placa, transparente, con halo
BTS-62	E2, Superficie, Directo	Gris- beige	2 mm	06/10/2019	Redonda, bien definida, abultada, brillante, abundante en placa

BTS-63	E2, Superficie, Directo	Amarillo- naranja	1 mm	06/10/2019	Redonda, sin contorno definido, muy escasa en placa
BTS-64	E2, Superficie, Directo	Gris- trasparente	5 mm	06/10/2019	Redonda, trasparente, abundante en placa
BTS-65	E2, Superficie, Directo	Guinda-vino	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, escasa en placa
BTS-66	E2, Superficie, 1:10	beige-gris	10 mm	06/10/2019	Redonda, abundante en placa
BTS-67	E2, Superficie, 1:10	beige-gris	7 mm	06/10/2019	Redonda, con líneas que salen del centro hacia afuera
BTS-68	E2, Superficie, 1:10	Beige	4 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, abultada, bien definida, escasa en placa
BTS-69	E2, Superficie, 1:10	Gris-beige	4 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, abultada
BTS-70	E2, Superficie, 1:10	Amarillo huevo	4 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, escasa en placa
BTS-71	E2, Superficie, 1:10	Beige	3 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, bien definida
BTS-72	E2, Superficie, 1:10	Beige	4 mm	06/10/2019	Redonda, halo transparente alrededor, escasa en placa
BTS-73	E2, Superficie, 1:10	beige-gris	4 mm	06/10/2019	Redonda, bien definida, escasa en placa
BTS-74	E2, SML, 1:10	beige-gris	3 mm	06/10/2019	Redonda, halo transparente, abultada, abundante en placa
BTS-75	E2, SML, 1:10	Blanca-gris	6 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, abundante en placa, sin contorno definido
BTS-76	E2, SML, 1:10	Amarillo	2 mm	06/10/2019	Redonda, transparente alrededor, brillante, escasa
BTS-77	E2, SML, 1:10	Blanca	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, bien definida, abundante en placa
BTS-78	E2, SML, 1:10	beige-gris	3 mm	06/10/2019	Redonda, sin contorno definido, escasa en placa
BTS-79	E2, SML, 1:10	Blanco-gris	4 mm	06/10/2019	Redonda, con líneas que salen del centro hacia afuera
BTS-80	E2, SML, 1:10	Beige	1 mm	06/10/2019	Redonda con halo grande transparente
BTS-81	E3, SML, 1:10	Gris- trasparente	10 mm	06/10/2019	Redonda, anillo blanco alrededor, gris al centro, brillante, muy abundante
BTS-82	E3, SML, 1:10	Beige- blanco	2 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, abundante en placa
BTS-83					
BTS-84	E3, SML, 1:10	Amarillo	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, bien definida

BTS-85	E3, SML, 1:10	Guinda	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, bien definida, única en placa
BTS-86	E3, Superficie, 1:10	beige-gris	11 mm	06/10/2019	Redonda, sin contorno definido
BTS-87	E3, Superficie, 1:10	Beige	2 mm	06/10/2019	Redonda, con halo grande alrededor, escasa
BTS-88	E3, Superficie, 1:10	beige-gris	5 mm	06/10/2019	Redonda, abultada, rugosa, abundante en placa
BTS-89	E3, Chla, Directo	beige-gris	9 mm	06/10/2019	Redonda, rugosa, bien definida
BTS-90	E3, Chla, Directo	beige-gris	7 mm	06/10/2019	Redonda, sin contorno definido
BTS-91	E3, Chla, Directo	Beige	3 mm	06/10/2019	Redonda, 2 anillos que la rodean, escasa en placa
BTS-92	E3, Chla, Directo	Naranja-melón	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, escasa en placa
BTS-93	E3, Chla, Directo	Amarillo-naranja	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, abundante en placa
BTS-94	E2, Chla, 1:10	beige-gris	11 mm	06/10/2019	Redonda, rugosa, abundante en placa
BTS-95	E2, Chla, 1:10	Amarillos-naranja	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, abundante en placa
BTS-96	E2, Chla, 1:10	Beige-Verde	1 mm	06/10/2019	Redonda, anillos transparente alrededor, abundante en placa
BTS-97	E2, Chla, 1:10	Durazno	2 mm	06/10/2019	Redonda, escasa en placa, bien definida
BTS-98	E2, SML, Directo	Beige	8 mm	06/10/2019	Redonda, más oscura al centro, anillo transparente alrededor
BTS-99	E2, SML, Directo	beige-gris	8 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, abundante
BTS-100	E2, SML, Directo	beige-gris	6 mm	06/10/2019	Redonda, con líneas que salen del centro hacia afuera
BTS-101	E3, SML, Directo	beige-gris	7 mm	06/10/2019	Redonda, muy abundante en placa
BTS-102	E3, SML, Directo	Durazno	3 mm	06/10/2019	Redonda, muy abundante en placa
BTS-103	E3, SML, Directo	Rosa	1 mm	06/10/2019	Redonda, muy abundante en placa
BTS-104	E3, Superficie, Directo	Beige-durazno	2 mm	06/10/2019	Redonda, anillo transparente alrededor, abundante en placa
BTS-105	E3, Superficie, Directo	Gris-blanco	5 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, muy abundante en placa
BTS-106	E3, Superficie, Directo	Durazno	2 mm	06/10/2019	Redonda, muy escasa en placa
BTS-107	E3, Superficie, Directo	Amarilla	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, escasa en placa

BTS-108	E3, Superficie, Directo	Rosada	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, abultada, escasa
BTS-109	E2, Superficie, 1:10	Gris-blanco	10 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, transparente, rugosa
BTS-110	E2, Superficie, 1:10	Beige	1 mm	06/10/2019	Redonda, abultada, bien definida
BTS-111	E2, Superficie, 1:10	Rosada- marrón	1 mm	06/10/2019	Redonda, única en placa
BTS-112	E2, Superficie, 1:10	beige-gris	11 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, abundante
BTS-113	E2, Superficie, 1:10	Gris-blanco	12 mm	06/10/2019	Redonda, con líneas que salen del centro hacia afuera
BTS-114	E2, Superficie, 1:10	Marrón	2 mm	06/10/2019	Anillo transparente alrededor, única en placa
BTS-115	E2, Superficie, 1:10	Amarillo huevo	1 mm	06/10/2019	Redonda, abultada, brillante, escasa en placa
BTS-116	E2, Superficie, 1:10	Beige	2 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, escasa en placa
BTS-117	E2, Chla, 1:10	Gris- blanco	12 mm	06/10/2019	Redonda, bien definida, abundante en placa
BTS-118	E2, Chla, 1:10	Amarillo huevo	1 mm	06/10/2019	Redonda, abultada, bien definida, abundante en placa
BTS-119	E2, Chla, 1:10	beige-gris	1 mm	06/10/2019	Redonda, bien definida, brillante, abultada, única en placa
BTS-120	E2, Chla, 1:10	Beige oscuro	2 mm	06/10/2019	Redonda, bien definida, única en placa
BTS-121	E2, Chla, 1:10	Durazno	1 mm	06/10/2019	Redonda, con halo transparente alrededor
BTS-122	E2, Chla, 1:10	beige-gris	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, la más abundante en placa
BTS-123	E2, Chla, 1:10	Beige	1 mm	06/10/2019	Redonda, con halo transparente alrededor
BTS-124	E2, Chla, 1:10	Blanco	1 mm	06/10/2019	Redonda, sin contorno definido, muy escasa en placa
BTS-125	E2, Chla, Directo	Gris-blanco	8 mm	06/10/2019	Redonda, bien definida, brillante, muy abundante en placa
BTS-126	E2, Chla, Directo	Amarillo huevo	1 mm	06/10/2019	Redonda, abultada, abundante en placa
BTS-127	E2, Chla, Directo	Durazno	4 mm	06/10/2019	Redonda, muy escasa en placa
BTS-128	E3, SML, 1:10	Rosa	1 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, abultada, abundante en placa
BTS-129	E1, SML, 1:10	Durazno	< 1mm	06/10/2019	Redonda, abultada, brillante

BTS-130	E1, SML, 1:10	Blanco	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, abultada, brillante
BTS-131	E1, SML, 1:10	Blanca	4 mm	06/10/2019	Redonda, sin contorno definido
BTS-132	E3, SML, 1:10	Gris-blanco	5 mm	06/10/2019	Redonda, con líneas que salen del centro hacia afuera
BTS-133	E3, SML, 1:10	Blanco-gris	4 mm	06/10/2019	Redonda, brillante, bien definida, mas gris al centro
BTS-134	E3, SML, 1:10	Rosa	3 mm	06/10/2019	Redonda, anillo marcado alrededor
BTS-135	E3, SML, 1:10	Amarillo huevo	1 mm	06/10/2019	Redonda, abultada, brillante
BTS-136	E3, SML, 1:10	Blanco-gris	< 1 mm	06/10/2019	Redonda, abundante

Tabla 4. Datos de secuencias obtenidas en los sitios de muestreo con primer 1492R. Gris indica secuencias confirmadas a rodopsinas mediante LC-MS

Sitio de muestreo	Aislado	Organismo más parecido en NCBI	% ident.	Cobertura	Tamaño seq bp	Número de acceso
BTS	BTS 1	<i>Morganella morganii</i> SDTA-5	98%	100%	312	MH299419.1
BTS	BTS 4	<i>Morganella morganii</i> SDTA-5	97.46%	100%	615	MH299419.1
BTS	BTS 5	<i>Vibrio alginolyticus</i> strain P19	99.81%	100%	526	JQ240277.1
BTS	BTS 25	<i>Vibrio alginolyticus</i> strain WDHV4	98%	100%	529	MN733131.1
BTS	BTS 27	<i>Vibrio azureus</i> strain A5	100%	100%	475	MN588841.1
BTS	BTS 37	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> B9	93.57%	100%	422	JQ900524.1
BTS	BTS 41	<i>Vibrio chagasii</i>	99.83%	100%	571	MN938232.1

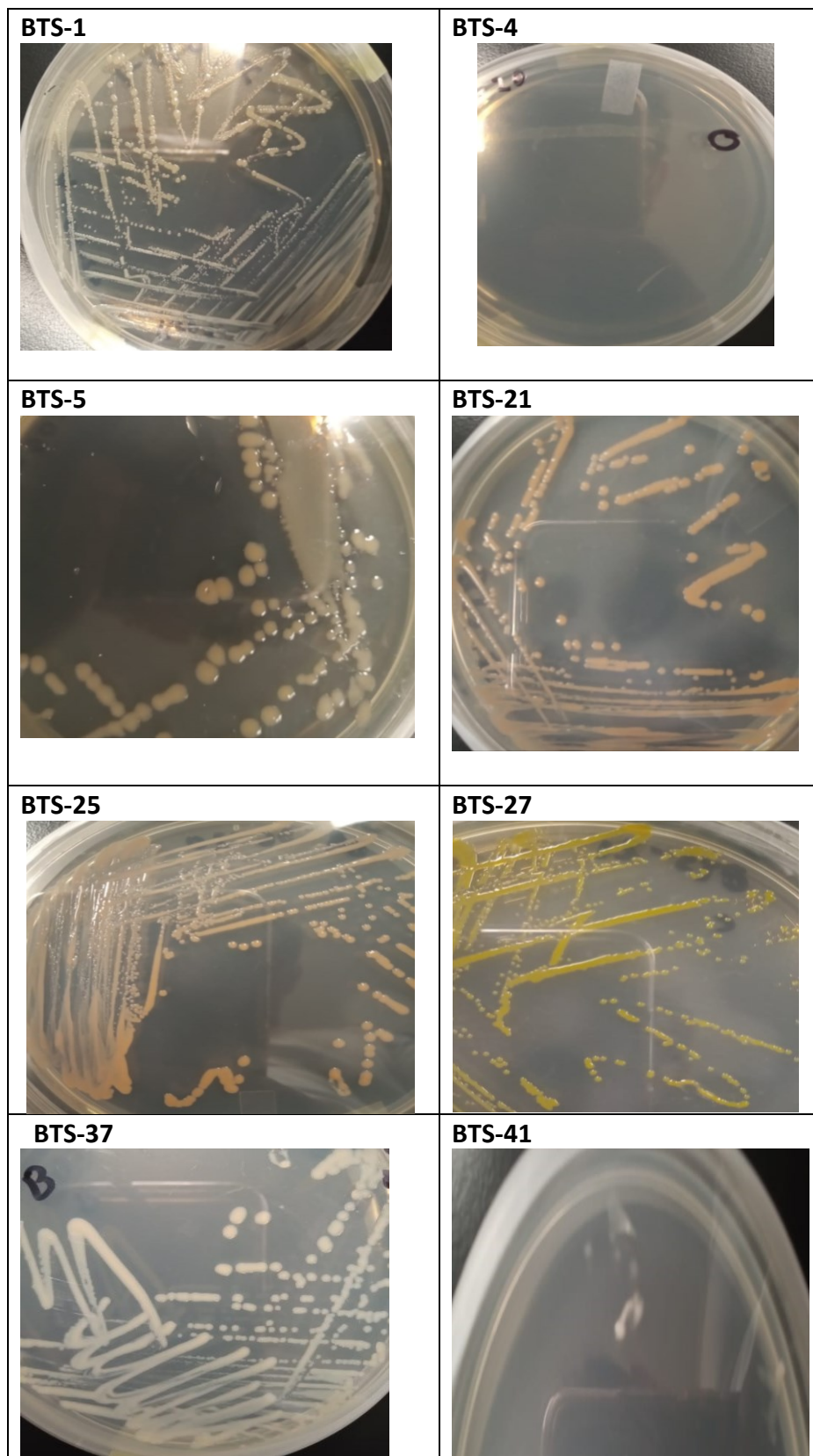


Figura 37. Aislados productores de rodopsinas en BTS

Tabla 5. Porcentaje y número de genomas bacterianos aislados de ambientes acuáticos que no tienen rodopsinas por *phylum*.

<i>Phylum</i>	Porcentaje %	Num. de genomas
Actinobacteria	7.90	223
Bacteroidetes	7.27	205
Balneolaeota	0.07	2
Calditrichaeota	0.11	3
Cyanobacteria	7.62	215
Deinococcus-Thermus	0.25	7
Firmicutes	6.70	189
Planctomycetes	0.57	16
Proteobacteria	65.58	1850
Acidobacteria	0.21	6
Aquificae	0.35	10
Armatimonadetes	0.07	2
Candidate division NC10	0.07	2
Chlamydiae	0.04	1
Chlorobi	0.39	11
Chloroflexi	0.60	17
Chrysiogenetes	0.04	1
Deferribacteres	0.07	2
Fusobacteria	0.11	3
Gemmatimonadetes	0.04	1
Lentisphaerae	0.04	1
Nitrospirae	0.04	1
Spirochaetes	0.46	13
Synergistetes	0.04	1
Thermodesulfobacteria	0.14	4
Thermotogae	1.03	29
Verrucomicrobia	0.21	6
Total	100.00	2821

Tabla 6. Número de genomas por *phylum* con genes de rodopsina en la base de datos de IMG.

	PR	No PR	Total	PR %	No PR %	Total %
Actinobacterias	55	223	278	19.78	80.22	100.00
Bacteroidetes	68	205	273	24.91	75.09	100.00
Proteobacteria	86	1850	1936	4.44	95.56	100.00
Cyanobacteria	9	215	224	4.02	95.98	100.00
Firmicutes	14	189	203	6.90	93.10	100.00
Planctomycetes	1	16	17	5.88	94.12	100.00
Rhodothermaeota	2	0	2	100.00	-	100.00
Total	235	2698	2933	-	-	-

Tabla 7. Resultados del análisis de clasificación de tipo de rodopsina utilizando el programa *Lucifer*, los números indican la presencia de diferentes rodopsinas en ese genoma.

Id IMG	PR	XnR h	HeR h	BacR h	Phylum	Class	Order	Ecosystem Subtype
2556921651	0	1	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Legionellales	Drinking water
2627853832	0	1	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Ice
2867781528	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2866001041	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867817509	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867824674	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867828399	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2866028902	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2866032107	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2866035411	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867284435	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867566196	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867569596	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867807622	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867810920	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867814162	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867832277	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867792450	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2675903689	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Lake
2728369273	0	1	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Lentic
2547132118	0	1	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Lentic
2731957580	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Lentic
2504643007	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Lentic
2767802762	0	1	0	0	Actinobacteria	unclassified	unclassified	Lentic
2503538028	0	1	0	0	Cyanobacteria	unclassified	Chroococcales	Lentic
2844826561	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Lentic
2606217176	0	1	0	0	Actinobacteria	unclassified	unclassified	Lentic
2767802759	0	1	0	0	Actinobacteria	unclassified	unclassified	Lentic
2767802760	0	1	0	0	Actinobacteria	unclassified	unclassified	Lentic
2767802761	0	1	0	0	Actinobacteria	unclassified	unclassified	Lentic
2551306152	0	1	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Pond
2545824763	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Pond
2845652492	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Pond
2843091766	0	1	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Marine
2865786575	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Unclassified
2523533537	0	1	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Wetlands
2524614836	0	1	0	0	Proteobacteria	Betaproteobacteria	unclassified	Neritic zone

2512564006	0	1	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Unclassified
2503283018	0	1	0	0	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Nitrosomonadales	Unclassified
2791354994	0	1	0	0	Bacteroidetes	unclassified	Bacteroidetes	Unclassified
2654587884	0	1	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Hypersaline
2505679009	0	1	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Thiotrichales	Hypersaline
2558309070	0	1	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Saline
2829757494	0	1	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Unclassified
2737471612	0	1	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Unclassified
2731957700	0	1	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Unclassified
2517093009	0	1	0	0	Bacteroidetes	unclassified	Bacteroidetes Order II. Incertae sedis	Unclassified
2576861623	0	1	0	0	Cyanobacteria	unclassified	Synechococcales	Unclassified
2811994966	0	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Unclassified
2866021013	0	2	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867573071	0	2	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867775576	0	2	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2863655778	0	2	0	0	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A
2816332120	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Creek
2816332126	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Creek
2728369468	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Freshwater
646311954	2	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Freshwater
2636415873	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Freshwater
2814123445	1	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Freshwater
2802428807	1	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Freshwater
2820962504	1	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2642422582	1	0	0	0	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Lake
2773857926	1	0	0	0	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Lake
2802429464	1	0	0	0	Cyanobacteria	unclassified	Synechococcales	Lake
2721755669	1	0	0	0	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Lake
2788500265	2	0	0	0	Cyanobacteria	unclassified	Synechococcales	Lake
2563366501	1	0	0	0	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Lake
2675903126	1	0	0	0	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Lentic
2663762678	1	0	0	0	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Nitrosomonadales	Lentic
2519899594	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Lentic
2524023130	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Lentic
2516653045	2	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Lentic
2513237132	3	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Lentic

2698536747	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Lotic
2556921110	1	0	0	0	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Pond
2731957930	1	0	0	0	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Pond
2728369501	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Pelagibacterales	Unclassified
2802429324	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Pelagibacterales	Unclassified
2505679030	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Unclassified
2695421041	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2867006115	1	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Unclassified
2788500227	1	0	0	0	Cyanobacteria	unclassified	Chroococcales	Unclassified
2728369216	2	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Unclassified
2510436000	2	0	0	0	Cyanobacteria	unclassified	Synechococcales	Unclassified
2513237284	0	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Unclassified
2534682265	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Coastal
2639762504	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Cellvibrionales	Coastal
2523533625	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Coastal
2693429912	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Coastal
2503982041	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Pelagibacterales	Intertidal zone
2523533553	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Intertidal zone
649633065	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Intertidal zone
2523533634	1	0	0	0	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Intertidal zone
2772190802	2	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Intertidal zone
2512047056	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Marginal Sea
2524023167	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Oceanic
2531839186	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Oceanic
2523533550	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Oceanic
2593339300	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Oceanic
2775506714	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Oceanic
2832964806	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Oceanic
2799112249	1	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Oceanic
2831830614	2	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Oceanic
2821680275	2	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Oceanic
2739367861	2	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Oceanic

2740891880	2	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Oceanic
2695420929	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Oceanic
2791355058	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Oceanic
2595698209	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Oceanic
2636416043	2	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Oceanic
2503283017	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Pelagibacterales	Unclassified
2521172709	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Pelagibacterales	Unclassified
2561511239	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Pelagibacterales	Unclassified
2751185908	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Pelagibacterales	Unclassified
2751185909	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Pelagibacterales	Unclassified
2517572075	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Unclassified
2693429884	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Unclassified
2700988728	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Unclassified
2503982040	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	unclassified	Unclassified
2511231080	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Unclassified
2513237134	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Unclassified
2509601022	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Cellvibrionales	Unclassified
2740892125	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Cellvibrionales	Unclassified
2740892131	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Unclassified
2740892152	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Unclassified
2740892174	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Unclassified
2751185713	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Unclassified
2504557021	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	unclassified	Unclassified
2529292737	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Vibrionales	Unclassified
2537561638	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Vibrionales	Unclassified
2547132126	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Vibrionales	Unclassified
2548876791	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Vibrionales	Unclassified
2579778813	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Vibrionales	Unclassified

2740892128	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Vibrionales	Unclassified
2772190766	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Vibrionales	Unclassified
2791354993	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Vibrionales	Unclassified
2503283019	2	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Pelagibacterales	Unclassified
2747842403	2	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Unclassified
2740892151	2	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Unclassified
2506520046	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Unclassified
2595699006	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Unclassified
2513237278	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2548876505	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2558860973	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2558860975	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2574179722	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2593339297	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2622736438	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2622736625	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2724679820	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2731639122	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2734482288	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2751185740	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2757320576	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2757320982	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2788500484	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2830033918	1	0	0	0	Bacteroidetes	Saprospira	Saprospirales	Unclassified
2866993168	1	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Unclassified
2767802767	1	0	0	0	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Unclassified
2832979616	1	0	0	0	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Unclassified

2540341128	2	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2593339282	2	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2775507245	2	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2721755502	2	0	0	0	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Unclassified
2791354879	2	0	0	0	Rhodothermaeota	Rhodothermia	Rhodothermales	Unclassified
2734482073	3	0	0	0	Bacteroidetes	Saprospiria	Saprospirales	Unclassified
2791354895	3	0	0	0	Rhodothermaeota	Rhodothermia	Rhodothermales	Unclassified
2684623023	1	0	0	0	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Hypersaline
2642422524	1	0	0	0	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Hypersaline
2518645613	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Hypersaline
2531839497	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Hypersaline
2724679789	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Saline
2551306066	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Saline
2554235232	1	0	0	0	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Saline
2619619644	2	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Saline
2622736531	2	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Saline
2695420935	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Salt crystallizer ponds
2524614595	1	0	0	0	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Unclassified
2830095549	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Unclassified
2795385468	1	0	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Unclassified
2756170257	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Unclassified
2663763601	1	0	0	0	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Unclassified
2596583521	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Unclassified
2622736517	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Unclassified
2829974516	1	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Unclassified
2695420946	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2758568012	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified

2788500483	1	0	0	0	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Unclassified
2802429304	1	0	0	0	Cyanobacteria	unclassified	Nostocales	Unclassified
2734482167	3	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Unclassified
2731639260	4	0	0	0	Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Unclassified
2574179782	1	0	0	0	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Unclassified
2619619047	2	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micromonosporales	Unclassified
2818991222	1	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Unclassified
2845007952	1	0	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Unclassified
2867576418	1	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867788650	1	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867796091	1	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2867800019	1	1	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice
2663762675	1	1	0	0	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Nitrosomonadales	Lake
2627853604	2	1	0	0	Cyanobacteria	unclassified	Synechococcales	Unclassified
2524614570	2	1	0	0	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Marginal Sea
2548876533	1	1	0	0	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	unclassified	Unclassified
2561511240	2	1	0	1	Bacteroidetes	unclassified	Bacteroidetes Order II. Incertae sedis	Unclassified
2867803922	1	2	0	0	Actinobacteria	Actinobacteria	Micrococcales	Ice

Tabla 8. Características de genomas con y sin genes de rodopsina. Se identificaron 235 genomas con genes de rodopsinas en la base de datos genómica del IMG. La media y la desviación estándar del tamaño de los genomas se obtuvo utilizando el programa *Statistica* versión 7

	Rodopsinas	No rodopsinas
Número de genomas	235	2821
Media	3,849,627	4,488,052
Desviación estándar	1,573,908	1,544,967

Tabla 9. Características de genomas con y sin genes de rodopsina. Se identificaron 87 genomas de Proteobacteria con genes de rodopsinas en la base de datos genómica del IMG. La media y la desviación estándar del tamaño de los genomas se obtuvo utilizando el programa *Statistica* versión 7.

Proteobacteria	Rodopsinas	No rodopsinas
Número de genomas	87	1850
Media	3,508,868	4,645,468
Desviación estándar	1,639,052	1,336,767

Tabla 10. Características de genomas con y sin genes de rodopsina. Se identificaron 68 genomas de Bacteroidetes con genes de rodopsinas en la base de datos genómica del IMG. La media y la desviación estándar del tamaño de los genomas se obtuvo utilizando el programa *Statistica* versión 7.

Bacteroidetes	Rodopsinas	No rodopsinas
Número de genomas	68	205
Media	4,171,740	4,378,878
Desviación estándar	1,201,968	1,105,788

Tabla 11. Características de genomas con y sin genes de rodopsina. Se identificaron 55 genomas de Actinobacteria con genes de rodopsinas en la base de datos genómica del IMG. La media y la desviación estándar del tamaño de los genomas se obtuvo utilizando el programa *Statistica* versión 7.

Actinobacteria	Rodopsinas	No rodopsinas
Número de genomas	55	223
Media	3,666,018	5,371,208
Desviación estándar	1,615,170	1,824,547

Tabla 12. Secuencias utilizadas para construir el HMM de actinorodopsinas.

Número de acceso	Nombre de la secuencia
ACN42852.1	putative_actinorhodopsin_actinobacterium_MWH-EgelM2-3.D6
ACN42847.1	putative_actinorhodopsin_partial_actinobacterium_MWH-EgelM2-3.H6
ACN42848.1	putative_actinorhodopsin_actinobacterium_MWH-Uga1
ACN42849.1	putative_actinorhodopsin_Candidatus_Rhodoluna_planktonica
ACN42846.1	putative_actinorhodopsin_partial_actinobacterium_MWH-EgelM2-3.B2
ACN42844.1	putative_actinorhodopsin_partial_Rhodoluna_lacicola
ACN42851.1	putative_actinorhodopsin_Rhodoluna_lacicola
ACN42843.1	putative_actinorhodopsin_partial_Rhodoluna_lacicola
ACN42845.1	putative_actinorhodopsin_partial_Candidatus_Aquiluna_rubra
ACN42850.1	putative_actinorhodopsin_Candidatus_Aquiluna_rubra
WP_055856982.1	bacteriorhodopsin_Agreia_sp._Leaf335
WP_133766401.1	bacteriorhodopsin_Amnibacterium_kyonggiense
WP_119480571.1	bacteriorhodopsin_Amnibacterium_setariae
WP_116412619.1	bacteriorhodopsin_Subtercola_boreus
WP_083263630.1	bacteriorhodopsin_Curtobacterium_sp._ER1/6
WP_058749072.1	bacteriorhodopsin_Curtobacterium_oceanosedimentum
WP_051427381.1	bacteriorhodopsin_Arthrobacter_sp._H20
WP_040324815.1	bacteriorhodopsin_Candidatus_Aquiluna_sp._IMCC13023
WP_021808305.1	bacteriorhodopsin_Leifsonia_rubra
WP_018784639.1	bacteriorhodopsin_Micromonospora_sp._CNB394

Glosario

Adenosín trifosfato (ATP): Nucleótido fundamental en la obtención de energía celular, está formado por una base nitrogenada (adenina) unida al primer carbono de una pentosa.

Bacteria: Son microorganismos procariotas que por lo general miden de 0.5-5 μm . Se presentan en diversas formas como cocos, bacilos, vibrios, espirilos y espiroquetas.

Carbono orgánico disuelto: Proporción de carbono utilizado como base estructural para la formación de moléculas necesarias que conforman las células y cuyo tamaño es menor a 0.2 μm . Es producto de la conversión de carbono inorgánico a través de la fotosíntesis.

Carbono orgánico particulado: Proporción de carbono utilizado como base estructural para la formación de moléculas necesarias que conforman las células y cuyo tamaño es mayor a 2 μm . Es producto de la transformación de carbono orgánico disuelto a través del ciclo microbiano.

Contenido de C-G: Es una característica del genoma de un organismo o de cualquier pedazo de ADN o ARN. G y C denotan guanina y citosina, respectivamente. Expresado generalmente como porcentaje, representa la cantidad de pares Guanina-Citosina en la molécula de ADN o genoma que está siendo investigado. Los pares GC en el ADN están conectados por tres enlaces de hidrógeno, lo que los hace más fuertes a la desnaturalización y más resistente a la desnaturalización por efecto de la temperatura.

Contigs: Secuencia de ADN que procede de dos o más secuencias que se superponen en sus extremos y se pueden juntar en una sola secuencia no redundante.

Cromatografía líquida y espectrometría de masas: Es una técnica analítica que combina la capacidad de separación del HPLC con la gran selectividad, sensibilidad y precisión en la determinación de la masa molecular de la espectrometría de masas, proporcionando información cualitativa y cuantitativa. Los componentes de la muestra separados en el HPLC pasan al espectrómetro de masas a través de una interfaz donde son ionizados. Los equipos de LC-MS pueden tener dos tipos distintos de interfases que se incluyen dentro de la denominada ionización a presión atmosférica (API), denominadas electrospray (ESI) e ionización química a presión atmosférica (APCI), ambas son compatibles con la mayoría de los solventes volátiles utilizados como fase móvil en HPLC. Los iones generados en la interfase son acelerados hacia un analizador y separados en función de su relación masa/carga (m/z) mediante la aplicación de campos eléctricos, magnéticos o simplemente determinando el tiempo de llegada a un detector. Los iones que llegan al detector producen una señal eléctrica que es procesada, ampliada y enviada a un ordenador. El registro obtenido se denomina espectro de masas y representa las abundancias iónicas obtenidas en función de la relación masa/carga de los iones detectados.

Cromóforo: Conjunto de átomos o sustancia capaz de absorber energía y excitar sus electrones hacia estados de mayor energía a diferentes longitudes de onda, resultando en la trasmisión o reflejo de otras longitudes de onda de menor energía (color).

Eucarionte: Son células en donde el material genético está contenido en un núcleo verdadero, tienen citoplasma y organelos delimitados por membranas.

Fitoplancton: Conjunto de organismos acuáticos pelágicos autótrofos con capacidad fotosintética.

Fisiología: Rama de la Biología que estudia los órganos de los seres vivos y su funcionamiento.

Fotosíntesis: Proceso químico que tiene lugar en organismos con clorofila, el cual consta del uso de la luz como fuente de energía para transformar un sustrato inorgánico en materia orgánica rica en energía.

Fototrofia: Estrategia metabólica de algunos seres vivos capaces de utilizar la luz como fuente de energía para sintetizar compuestos orgánicos.

Gen 16s: El ARN ribosomal es el componente de la subunidad menor de los ribosomas procariontes y los genes que lo codifican son conocidos como 16s y se utilizan para la reconstrucción de filogenias debido a su baja tasa de evolución.

Genoma: Conjunto de genes contenidos en uno o más cromosomas, que conforman la totalidad del material genético que posee un organismo en particular.

Genómica: Campo de la Biología molecular dedicada al estudio de los genomas completos de los organismos.

Heterótrofia: Estrategia metabólica que siguen algunos organismos que consta en la obtención y utilización de compuestos orgánicos como fuente de energía para sintetizar otros compuestos orgánicos.

Metagenómica: Campo de la Biología molecular enfocada en el estudio de los genomas que conforman una comunidad y provienen de una muestra ambiental.

Patógeno: Organismo capaz de producir un daño biológico en otro organismo huésped ya sea animal o vegetal.

Modelos Ocultos de Markov: Es un modelo estadístico en el que se asume que el sistema a modelar es un proceso de parámetros desconocidos. El objetivo es determinar los parámetros desconocidos (*u ocultos*, de ahí el nombre) de dicha cadena a partir de los parámetros observables. Los parámetros extraídos se pueden emplear para llevar a cabo sucesivos análisis.

Pellet: Es una denominación genérica utilizada para referirse a pequeñas porciones de material aglomerado o comprimido de diferentes materiales.

Phred score: Valor de calidad de cada base secuenciada. Un valor de 30 indica que la precisión de la basesecuciada es del 99.9%.

Primer: Es una cadena de ácido nucleico o de una molécula relacionada que sirve como punto de partida para la replicación del ADN

Secuenciación Sanger: Se basa en el empleo de dideoxinucleótidos que carecen del grupo hidroxilo del carbono 3', de manera que cuando uno de estos nucleótidos se incorpora a una cadena de ADN en crecimiento, esta cadena no puede continuar elongándose. Esto sucede porque la polimerasa necesita un grupo terminal 3' OH para añadir el siguiente nucleótido y el dideoxinucleótido incorporado carece de este grupo hidroxilo. El método comienza una vez que se aísla y se clona el ADN que se desea secuenciar. Este ADN se desnaturaliza y se emplea una sola hebra para la secuenciación. En la secuenciación se utiliza un cebador (denominado "primer" en inglés), que se encarga de suministrar el terminal 3'OH que necesita la ADN polimerasa para comenzar a elongar.

Trama trófica: Proceso de circulación de energía entre distintos organismos que establece relaciones entre distintos niveles tróficos.