

ESTUDIOS DE METAGENÓMICA EN COLOMBIA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN MUESTRAS AMBIENTALES: REVISIÓN SISTEMÁTICA

ANGGIE MELISSA MERCADO MONTILLA

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:
Microbióloga

Directora:
KAREN MELISSA CARDONA TOBAR.
Zootecnista MsC

Grupo de Investigación:
Grupo de Investigación en Microbiología, Industria y Ambiente (GIMIA)

UNIVERSIDAD SANTIAGO DE CALI
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA
CALI, COLOMBIA
2022

IMPACTOS

Relación de los impactos que presentó el Trabajo de Grado

IMPACTO	PRODUCTO	BENEFICIARIO(S)
Científico	Apropiación social del conocimiento, presentación en eventos: Internacional: 1 (Anexo 1) Nacional: 1 (Anexo 2) Escritura de artículo para ser sometido en revista indexada	Comunidad científica
Tecnológico	Participación en la elaboración de video ponencia disponible en: https://www.youtube.com/watch?v=CujEb7nuL0k	Comunidad científica
Ambiental	Lista de géneros y especies de bacterias de interés ambiental en Colombia (Anexo 3)	Comunidad científica
Social	Participación en el Semillero de Investigación en Microbiología Ambiental	Estudiante

ESTUDIOS DE METAGENÓMICA EN COLOMBIA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN MUESTRAS AMBIENTALES: REVISIÓN SISTEMÁTICA

Resumen. Los microorganismos son una fuente importante de biodiversidad y Colombia es categorizado como uno de los países más megadiversos, por lo cual se cree que microorganismos como las bacterias abundan en el territorio, aunque se desconocen muchas especies y su función; una herramienta para identificar y conocer esta diversidad bacteriana es la metagenómica, que aunque es un campo poco explorado en Colombia, permite obtener este tipo de información, razón por la cual en el presente estudio se recopilieron las investigaciones realizadas utilizando análisis metagenómicos a partir de muestras ambientales. Por este motivo el objetivo de esta revisión es realizar el análisis de la literatura y para llevarlo a cabo, se realizó una búsqueda bibliográfica en diferentes bases de datos y se aplicaron criterios de inclusión y exclusión para la selección de 34 documentos publicados. Se encontró que la región donde se reportan el mayor número de estudios es la Andina, siendo el Parque Natural Nacional los Nevados el lugar donde se tomaron la mayor cantidad de muestras. Con respecto a los resultados de diversidad taxonómica se encontraron 46 especies de bacterias que aún no se encuentran en los registros actuales del SiB Colombia, hallazgo importante para investigaciones futuras. Los estudios de Metagenómica también sirven para identificar en las bacterias enzimas con actividad lipolítica, conocer las interacciones con otros microorganismos o identificar rutas de genes que contribuyen al metabolismo de diferentes compuestos de interés para diferentes tipos de industria.

Palabras claves: Biodiversidad, NGS, microbioma, metagenómica, bacterias ambientales.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias son una parte importante de la biomasa total del planeta y se considera que después de las plantas son los principales componentes de biodiversidad en la tierra¹. Además, estos microorganismos desempeñan un papel importante en todos los procesos biogeoquímicos². En este sentido, Colombia es considerado un país megadiverso y ocupa el segundo lugar con la mayor diversidad biológica después de Brasil³. En los datos publicados en el Sistema de Información Biológica SiB, existe un registro de 100 bacterias, las cuales en su mayoría son de interés clínico⁴. Sin embargo, este dato solo representa una pequeña fracción de la biodiversidad bacteriana que puede existir en el territorio colombiano. El estudio de estos microorganismos, principalmente bacterias de importancia ambiental ha sido limitado, una de las razones podría ser el hecho de que la mayoría no son cultivables en laboratorio⁵. En este contexto, los estudios de metagenómica se consideran de gran importancia porque permiten la identificación de microorganismos sin la necesidad de realizar el proceso de cultivo en laboratorio⁶⁻⁸.

La metagenómica hace referencia al análisis de una colección de genomas microbianos presentes en diferentes ecosistemas, desde el año 2013 se menciona que la palabra meta proviene del griego “más allá de” lo cual quiere decir más allá del genoma^{9,10}. La importancia de los estudios de metagenómica a nivel microbiológico radica no solo en el conocimiento de la biodiversidad bacteriana, sino que también permite estudiar la interacción entre los microorganismos y el ambiente donde se encuentran¹¹. En general, para realizar un estudio

metagenómico se deben tener en cuenta los siguientes pasos: (1) selección de la matriz donde se tomará la muestra, (2) aislamiento del material genético (3), análisis del material genético, (4) construcción de una librería, e (5) interpretación de las librerías metagenómicas¹². Los análisis metagenómicos se realizan utilizando tecnologías de secuenciación masiva, las más utilizadas son la pirosecuenciación¹³⁻¹⁵, Illumina¹⁶⁻¹⁸ y secuenciación Ion Torrent¹⁹⁻²¹, las cuales forman parte de las conocidas *Next Generation Sequencing* o NGS por sus siglas en inglés. Actualmente se habla de tecnologías de secuenciación de tercera y cuarta generación, las cuales buscan suprimir el uso de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) utilizando una única molécula y reduciendo costos a nivel de secuenciación. Algunas de las plataformas de secuenciación de tercera y cuarta generación más usadas son Helicos BioSciences, Pacific BioSciences, ZX Genetics)²²

El primer proyecto de metagenómica que se reportó en muestras ambientales se conoce como “*Environmental Genome Shotgun Sequencing of the Sargasso Sea*” En este estudio se analizaron muestras de seis puntos diferentes en las Bermudas, específicamente en el mar de Sargasso. Como resultados de este estudio se obtuvieron 1.800 genomas únicos de bacterias, 48 filotipos como *Euryarchaeota* y *Thermoproteia* y 1,2 millones de genes aún con función desconocida²³. Estudios posteriores involucraron muestras de suelos, pero especialmente en los que se creía que no había ninguna actividad microbiana, en estos no solo se encontró actividad de ciertos microorganismos, sino que se logró caracterizar a través de la secuenciación del ARN ribosomal 16S y el uso de secuenciación Shotgun genes como *rbcL*, *coxL* y *nifH*, los cuales están relacionados con la fijación de Carbono y Nitrógeno durante los procesos de fotosíntesis²⁴. En países como Japón se ha analizado la abundancia microbiana en muestras de suelo con ceniza volcánica y se identificó como estas repercuten positivamente en la composición de los mesocosmos²⁵.

En el campo de la biorremediación, en uno de los estudios donde se utilizó secuenciación Shotgun, se evaluó la dinámica de una comunidad bacteriana en muestras de suelos contaminados con Diesel ubicados en el alto ártico canadiense y uno de los hallazgos más relevantes de este estudio fue la confirmación de que las especies de *Pseudomonas* y *Rhodococcus* expresaban activamente genes de degradación de hidrocarburos²⁶. Por otro lado, Fondi & colaboradores en el año 2013²⁷ Aislaron en la laguna de Venecia en Italia, la cepa *Acinetobacter venetianus* VE-C3 conocida por su capacidad de degradar n-alcanos y por medio del análisis metagenómico se identificaron genes que intervienen en el metabolismo de la degradación de los n-alcanos de cadena larga²⁷. Los hallazgos anteriores muestran como los estudios de metagenómica se pueden realizar con cualquier tipo de matriz y los resultados permiten ampliar el conocimiento de la diversidad bacteriana, rutas metabólicas, interacciones entre ambiente y microorganismos, conocimiento de enzimas y genes²⁸.

En Colombia se han realizado estudios con biosólidos obtenidos en una planta de tratamiento de aguas residuales durante época lluviosa y seca en Medellín, usando técnicas de NGS uno de los hallazgos obtenidos es que *Pseudomonas* fue la bacteria que predominó durante la estación seca, mientras que *Coprothermobacter* lo fue en la estación lluviosa²⁸, suelo rizosférico utilizado en cultivos de papa²⁹, microbiota intestinal de pacientes con alto y bajo riesgo de cáncer en Nariño³⁰, entre otros. Uno de los ambientes más estudiados para realizar

análisis metagenómicos es el suelo, por esta razón uno de los kits de extracción de ADN más comunes es el Kit comercial Power Soil DNA TM, de hecho el primer estudio en Colombia fue realizado en el año 2010 en suelos utilizados para cultivos agrícolas³¹. Además, no solo se realizan análisis de metagenómica utilizando muestras ambientales, sino que también se pueden realizar a cualquier matriz como se evidenció en un estudio realizado a una muestra tomada de la superficie de un billete, en este se encontraron 233 géneros bacterianos, 12 de los cuales contienen especies con potencial patogénico³².

Respecto a los trabajos de revisión se conocen dos en Colombia, uno de estos trabajos se titula “*Enfoque metagenómico para la caracterización del microbioma de aves corral*”³³ y otro tiene como título “*Systematic Review about Mobile Genetic Elements Carriers of Genes of Antibiotic Resistance in Waste Water*”³⁴. En los anteriores estudios se analizaron artículos donde se usó la metagenómica, en el primer estudio se recopiló información de diferentes partes del mundo³³, mientras que en el segundo estudio se enfocaron en estudios realizados en el territorio colombiano con muestras de agua residual³⁴. Estos estudios muestran el interés de usar la metagenómica para el desarrollo de investigaciones en diferentes matrices incluidas las ambientales.

En el Valle del Cauca, se considera que también existe interés por la realización de este tipo de estudios, ejemplo de ello es el trabajo “*Aproximación metagenómica para la identificación de bacterias endófitas de la raíz de yuca (Manihot esculenta Crantz) bajo condiciones de estrés abiótico*”³⁵. Considerando lo mencionado anteriormente, el objetivo de esta revisión fue recopilar y analizar los estudios de metagenómica realizados en Colombia para la identificación de bacterias en muestras de tipo ambiental. El análisis de estos estudios permitió resolver la siguiente pregunta de investigación ¿Cuáles, cuantos y como contribuyen los estudios de metagenómica realizados en muestras ambientales a la identificación de diferentes especies de bacterias, genes, enzimas y rutas metabólicas en Colombia?

METODOLOGÍA

Estrategia de búsqueda. Se realizó una búsqueda bibliográfica en las bases de datos multidisciplinarias Springer Link y DOAJ y en las bases de datos especializadas Science Direct y SciELO. Además, se utilizó Google Scholar como buscador de literatura gris. La búsqueda se realizó con las siguientes palabras claves en español: metagenómica, diversidad bacteriana, bacterias, ARNr 16S y Colombia. También se utilizaron las palabras claves en inglés: metagenomics, bacterial biodiversity, 16S rRNA y Colombia. Al realizar la búsqueda bibliográfica inicial, no se encontró información relevante, por lo que se implementó una nueva estrategia de búsqueda donde se utilizaron palabras claves adicionales en español y se combinaron entre ellas; Suelos, Rizosfera, Agua residual, Minas, Biopelículas, Páramos, Arrecifes de coral y Manglares. En inglés: Soil, Rhizosphere, Sewage water, Mines, Biofilms, Badlands, and Wastelands. Se buscaron documentos publicados en inglés y español entre agosto de 2010 y agosto de 2021. Se realizó también una búsqueda en la página del SiB Colombia ya que esta lleva el registro actualizado de la biodiversidad bacteriana del país y era una base de datos clave para este tema.

Criterios de inclusión y exclusión. Los criterios para tener en cuenta un documento dentro de la revisión fueron: palabras clave (descritas en la estrategia de búsqueda), tipo de estudio (tesis y artículos de investigación indexados), población (Colombia), tipo de muestras (muestras ambientales tales como suelo, agua, biopelículas y rizósfera), fecha de publicación (entre agosto de 2010 y agosto de 2021), idiomas (español e inglés). Se excluyeron de la revisión aquellos documentos que no contaban con los criterios planteados para el análisis, por ejemplo, revisiones de tema, investigaciones realizadas fuera de Colombia y estudios que mostraban diversidad de otros microorganismos diferentes a bacterias. También, se excluyeron aquellas publicaciones donde se analizaban muestras clínicas. Para la selección de los artículos a analizar se aplicaron algunos de los criterios recomendados en la declaración Elementos de informe preferidos para revisiones sistemáticas y metaanálisis (PRISMA por sus siglas en inglés) tales como: título, resumen estructurado, justificación, objetivos, criterios de elegibilidad, fuentes de información, estrategias de búsqueda, entre otros³⁷.

Recopilación del material. La información encontrada en las búsquedas bibliográficas se recopiló en documentos formato PDF o Word. Solo se tuvieron en cuenta los artículos en texto completo y resúmenes que suministren datos de utilidad para el análisis. Cada uno de los documentos se guardó con los apellidos de los autores y el año de publicación. Los resultados del análisis se registraron en un archivo de Excel con la siguiente información: fecha de búsqueda, título del artículo, autores, base de datos donde fueron encontradas las publicaciones, año de publicación, lugar o ciudad, departamento, tipo de muestra y enfoque metagenómico. Además, se registraron los resultados correspondientes a dominio, filo, clase, orden, familia, género y especie.

Guías y materiales para el análisis crítico de la literatura. Para el análisis crítico de la literatura seleccionada, se elaboró una guía para la lectura (Tabla 1) siguiendo la metodología descrita por Rosero & Del corral, 2008 ³⁸. Además, se trabajó en el aplicativo Rayyan para realizar una selección más acertada de los artículos, ya que esta permite introducir criterios de inclusión, exclusión y ayuda a identificar artículos duplicados o con similitud³⁹.

Tabla 1 Guía para la lectura crítica de la literatura seleccionada modificada de Rosero & Del Corral, 2008.

A. ¿Son válidos los resultados del estudio?
1. ¿El estudio se orienta a una pregunta claramente definida y relacionada con los estudios de Metagenómica realizados en Colombia?
2. ¿Los objetivos del estudio están definidos con claridad?
3. ¿El título expresa lo que el autor pretende evidenciar en el estudio?
4. ¿Cuáles son los enfoques metagenómicos utilizados en los diferentes estudios?
B. ¿Cuáles fueron los resultados?
1. ¿Cómo se realizó el análisis de los resultados?
2. ¿Los resultados obtenidos son comparables con resultados obtenidos en estudios a nivel internacional?
C. ¿Los resultados permiten cumplir los objetivos propuestos?

-
1. ¿Los resultados ayudan a estimar un número significativo de los estudios de metagenómica realizados en Colombia?
 2. ¿Se obtienen conclusiones válidas sobre estudios de metagenómica en Colombia?
-

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La búsqueda bibliográfica arrojó un total de 4734 documentos, se puede observar que la base de datos donde mayor cantidad de resultados se obtuvieron fue Google Scholar ya que por ser una base de datos de literatura gris arroja resultados con información más general, también se encontró que una de las bases de datos que menores resultados arrojó fue PubMed por ser esta una base de datos específica o especializada en temas médicos. (**Tabla 2**).

Tabla 2. Resultados de la búsqueda bibliográfica

BASE DE DATOS		ESPAÑOL	INGLÉS
Número de documentos encontrados en cada base de datos	SciELO	257	352
	PubMed	53	60
	Springer Link	128	250
	Science Direct	440	645
	Scopus	64	53
	DOAJ	21	56
	Google Scholar	987	1083
	Nature	132	153
TOTAL		2082	2652

Con los resultados de la búsqueda se realizó una primera selección eliminando artículos duplicados, después por medio de los criterios de inclusión y exclusión se seleccionaron 165 artículos y finalmente en el aplicativo Rayyan se seleccionaron 34 documentos (**Figura 1**).

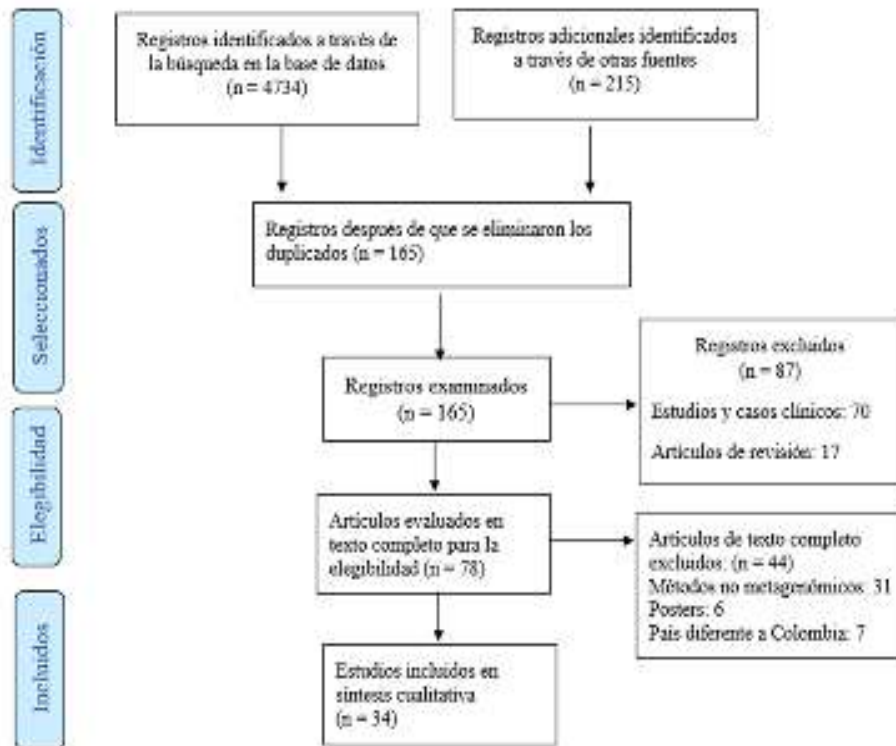


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de selección de las publicaciones a analizar según criterios PRISMA.

En los artículos que cumplieron con los criterios se encontró que los departamentos de Antioquia, Quindío y Cundinamarca reportaron la mayor cantidad de investigaciones, convirtiendo así a la región Andina en aquella con más estudios realizados con un total de 25. Esto debido a que en esta región se encuentra ubicado el Parque Nacional y Natural los Nevados (PNN), lugar de interés para la realización de análisis de metagenómica. La región Caribe tiene un total de seis estudios y la región Pacífica tres, las regiones donde no se encontraron publicaciones fueron la región Amazónica y la región de la Orinoquia. Colombia se divide en seis regiones naturales caracterizadas por diferencias en la topografía, el clima, la vegetación, el tipo de suelo y la producción de hidrocarburos⁴⁰. En general se encontró que el mayor número de publicaciones sobre metagenómica se ha realizado en departamentos ubicados en la región Andina, siendo el Parque Nacional Natural (PNN) los Nevados el sitio donde se tomó la mayor cantidad de muestras, seguido por plantas de aguas residuales^{41,42} o muestras del río Bogotá⁴³⁻⁴⁵. El PNN los Nevados es uno de los sistemas montañosos más complejos de Colombia, geográficamente abarca la extensión de cinco nevados que son; Nevado del Tolima, Nevado del Quindío, Nevado Santa Isabel, Nevado del Cisne y Nevado del Ruíz y cuenta con una gran cantidad de lagunas que hacen parte de la reserva hídrica de esta región⁴⁶. El PNN los Nevados tiene diferentes tipos de ecosistemas desde páramos hasta humedales, se caracteriza por ser un lugar con gran diversidad de flora y fauna, razón por la cual es un lugar idóneo para realizar diferentes investigaciones, como las relacionadas con el uso de la metagenómica⁴⁷⁻⁴⁹. **(Figura 2).**

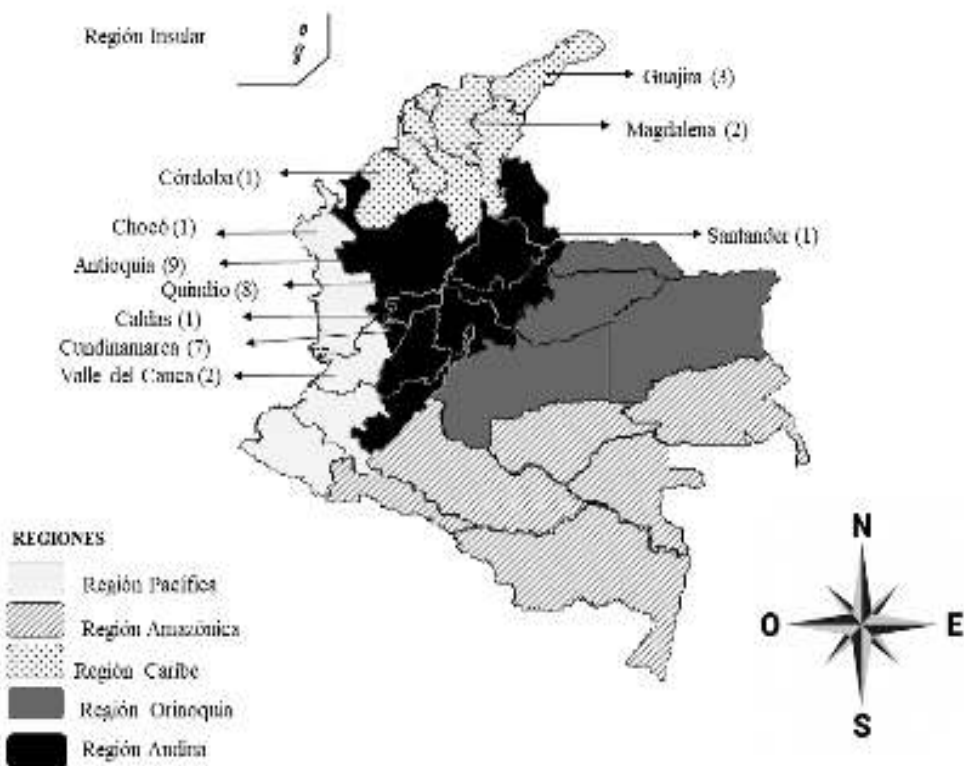


Figura 2. Mapa de Colombia con departamentos y regiones donde se publicaron estudios de metagenómica.

Con respecto al año y número de publicaciones la primera publicación se realizó en el año 2010³². En el año 2019 se encontró la mayor cantidad, probablemente esto se relaciona con el proyecto de metagenómica gestionado por el gobierno y el Centro Colombiano de Genómica y Bioinformática de Ambientes Extremos (GeBIX) conformado en el año 2007 y cuya fase inicial tuvo lugar entre los años 2008-2010⁵⁰. Este proyecto fue liderado por 14 grupos de investigación ubicadas en siete instituciones del país, las cuales son la Corporación Corpogen, la Universidad Nacional de Colombia, la Pontificia Universidad Javeriana, la Universidad del Valle, la Universidad de Caldas, la Fundación Parquesoft y la Universidad del Cauca. El objetivo de este proyecto fue hacer uso responsable de los recursos ambientales para la investigación⁵¹, probablemente por esa razón las investigaciones sobre metagenómica aumentaron después del año 2012. Sin embargo, en los últimos años disminuyeron la cantidad de publicaciones debido a la emergencia sanitaria del virus SARS-CoV-2 que llevó al confinamiento en Colombia desde marzo hasta agosto del mismo año y como consecuencia se restringió el acceso a los diferentes centros de investigación⁵². **(Figura 3).**

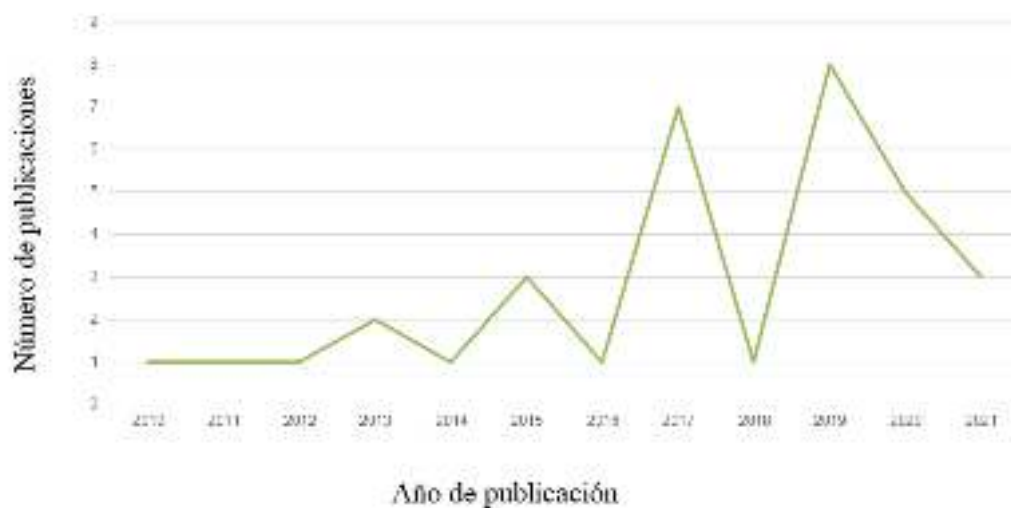


Figura 3. Número de estudios sobre metagenómica en Colombia a partir de muestras ambientales realizados entre 2010 y 2021.

Los artículos analizados en su mayoría registraron resultados de biodiversidad arrojando los siguientes datos taxonómicos: Dominio (n=5), Filo (n=25), Clase (n=12), Orden (n=26), Familia (n=20), Género (n=83) y Especie (n=146) (Figura 4). Adicionalmente, en Colombia se han realizado estudios como el descrito por Montaña Lara, 2010, donde utilizando técnicas de secuenciación NGS se lograron construir bibliotecas metagenómicas donde identificaron enzimas lipolíticas en suelo del bosque alto andino del parque nacional natural los nevados⁵³, interacciones entre microorganismos y el medio descrito por los autores Suarez Silva, Alvares Yela & cols 2017, respectivamente^{32,54} y otros como la identificación de vías y genes que contribuyen al metabolismo de carbohidratos, aminoácidos y azúcares fermentados^{49,55}.



Figura 4. Resultados taxonómicos encontrados en el análisis de la literatura.

En la **Tabla 3** se registraron los datos de los principales hallazgos de los 34 estudios seleccionados para el análisis de esta revisión sistemática. Se encontró que en Colombia se han realizado estudios con el uso de la metagenómica utilizando diferentes muestras ambientales, como muestras de suelo^{56,57}, aguas residuales^{41,58}, biopelículas^{29,59}, agua de río⁴³ y ambientes extremos como aguas termales⁴⁷. Siendo la muestra de suelo la más frecuente en los estudios analizados, al igual que el kit de extracción Power Soil DNA

La técnica de secuenciación más usada en Colombia para el análisis de metagenómica es Illumina y el software de análisis más utilizado fue el MG-RAST, aspectos que muestran que se está a la vanguardia en la metodología para este tipo de estudios en el país esto debido a sus bajos costos, fácil acceso y utilidad ya que la mayoría de estos estudios han sido presentados como trabajos de pregrado en los cuales no se cuenta con una amplia financiación.

Esta revisión sistemática proporciona una compilación de estudios realizados en Colombia con el uso de metagenómica en muestras ambientales. Se analizaron 34 estudios y con los resultados taxonómicos obtenidos y después de realizar la búsqueda en la página del SiB Colombia se podría sugerir una actualización del número de bacterias existentes en el país de las 100 que ya se encuentran registradas⁴ a 146. La falta de registro de las bacterias no cultivables en el SiB Colombia se puede deber a que para la publicación de registros en esta base de datos se requiere formar parte de una organización que sea avalada por el grupo de coordinadores del SiB, entre otros aspectos que tal vez los investigadores no tengan conocimiento⁴. El hallazgo de estas especies no registradas en el SiB muestra la importancia que tienen estos estudios en nuestro territorio, ya que Colombia es conocido como un país megadiverso. Lo anteriormente mencionado se encuentra en un listado el cual pertenece al **(Anexo3)**.

Tabla 3. Principales hallazgos de los estudios incluidos en esta revisión sistemática.

#	AUTORES Y AÑO PUBLICACIÓN	TIPO DE MUESTRA	LUGAR/CIUDAD	DEPARTAMENTO	TÉCNICA/MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ADN	TÉCNICA DE SECUENCIACIÓN	RESULTADOS TAXONOMIA
1	Jiménez y cols. 2012 ⁶⁰	Suelo	Manizales	Caldas	Kit comercial: Power Soil DNA TM Kit	BigDye Terminator kit en un secuenciador automático ABI-3730XL	Filo: 5 Especies: 14
2	Jiménez y cols. 2013 ⁴⁷	Aguas termales	Nacimiento de agua termal “El Coquito” /Parque Nacional Natural (PNN) los Nevados	Quindío	No reporta	Secuenciación de alto rendimiento PhyloChip	Filo:7 Clase: 3 Orden: 10 Géneros: 6 Especies: 4
3	Montaña 2015 ⁴⁸	Suelo	Bosque Andino en el PNN los Nevados	Quindío	Kit comercial: Power Soil DNA™ extraction kit	BigDye Terminator kit en un secuenciador automático ABI-3730XL	Dominio: 2 Filo: 2 Clase: 3 Orden: 6 Géneros:14 Especies: 8
4	Sandoval y cols. 2015 ⁴⁹	Suelo	PNN los Nevados	Quindío	No reporta	Illumina	Dominio: 1 Filo: 4
5	García y cols. 2016 ⁶¹	Agua	Medellín	Antioquia	Kit comercial: UltraClean Soil DNA Isolation Kit	No reporta	Filo: 3 Familias: 7 Especies: 6
6	Álvarez y cols. 2017 ⁵⁴	Suelo	PNN los Nevados	Quindío	Kit comercial: Power Soil DNA TM Kit	Illumina	Filo: 11 Clase: 1 Orden:16 Familia:1
7	Palma y cols. 2017 ⁶²	Celulasas derivadas del suelo	Bogotá, D.C.	Cundinamarca	No reporta	Ion Torrent	Dominio: 1 Género: 1

8	Bedoya y cols. 2019 ⁶³	Biosólidos	Planta de tratamiento de aguas residuales, Medellín	Antioquia	Kit comercial: Powermax® Soil DNA Isolation Kit	Pirosecuenciacion de alto rendimiento usando: Roche 454	Dominios: 4 Filo: 14 Familias: 26 Géneros: 14
9	Ruíz y cols. 2019 ⁶⁴	Agua de río y aguas residuales	Bogotá, D.C.	Cundinamarca	kit comercial: PowerSoil® DNA Isolation Kit	Illumina	Dominios: 4 Clase: 10 Orden: 2
10	Torres y cols. 2019 ⁶⁵	Suelo rizosférico de manglares	Riohacha	La Guajira	kit comercial: PowerLyzer PowerSoil DNA Isolation Kit	Illumina	Filo: 12 Clase: 30 Géneros: 64
11	Venegas y cols. 2019 ⁶⁶	Suelo rizosférico de manglares semiáridos	Riohacha	La Guajira	Kit comercial: PowerLyzer PowerSoil DNA Isolation Kit	Illumina MiSeq	Dominios: 3 Filo: 10 Clase: 14 Orden: 26 Familias: 35 Géneros: 33 Especies: 32
12	Coronado 2019 ⁶⁷	Leche cruda de bovinos	Palmira	Valle del Cauca	No reporta	Illumina	Filo: 4 Orden: 6 Géneros: 5
13	Caraballo y cols. 2020 ⁵⁹	Biopelículas bacterianas en cuatro plantas procesadoras	Medellín	Antioquia	Kit comercial: High Pure Template kit	Illumina	Filo: 4 Familias: 102 Géneros: 27
14	Sierra y cols, 2020 ⁶⁸	Liquen	Chingaza, Los Nevados	Cundinamarca, Tolima	Kit comercial: PowerSoil Kit de aislamiento de ADN	Illumina	Filo: 6 Clase: 6 Familias: 2
15	Muñoz y cols. 2019 ⁶⁹	Suelo rizosférico de Avicennia germinans	Manglares	La Guajira	Kit comercial: PowerLyzer PowerSoil DNA Isolation Kit	Illumina	No reporta
16	Parra 2011 ⁴⁵	Agua de río	PNN los Nevados	Quindío	No reporta	Pirosecuenciacion	No reporta resultados

17	Bedoya y cols. 2021 ⁷⁰	Yacimiento de petróleo en cuenca de rio	Noreste Colombiano	Magdalena medio	Kit comercial: PowerSoil® DNA Isolation Kit	Illumina	Filo: 11 Géneros: 17
18	Bejarano 2013 ⁵⁷	Suelo	Filandia	Quindío	Kit comercial: UltraCleanSoil® DNA Isolation Kit	Illumina	No reporta
19	Fernández y Herrera 2019 ³⁶	Plantas de yuca	Cali	Valle del Cauca	Método de extracción Doyle y Doyle (DD)	Illumina	Dominios: 2 Filo: 18 Clase: 38 Orden: 68 Familias: 110 Géneros: 198 Especies: 80
20	Suarez 2010 ³²	Suelo de cultivos de papa amarilla	Bogotá, D.C.	Cundinamarca	Kit comercial: kit UltraClean TM Mega Soil DNA	No reporta	Dominios: 2 Filo: 3 Clase: 3 Orden: 4
21	Calderón y Suarez 2017 ⁷¹	Suelo rizosférico	Altiplano Andino	Cundinamarca	Kit comercial: UltraClean Mega Soil DNA Kit	Pirosecuenciacion en Roche 454 FXL	No reporta
22	Pacheco y cols. 2018 ⁷²	Cerezas frescas de café	Finca los Santos	Santander	Kit comercial: ADN PowerSoil® Soil DNA Isolation Kit	Illumina	Filo: 1 Géneros: 2
23	Yarzabal y cols. 2017 ⁷³	Suelo de uso agrícola	Andes tropicales	Chocó	Kit comercial: ADN PowerSoil® Soil DNA Isolation Kit	Pirosecuenciación	Filo: 17 Familias: 11 Géneros: 49
24	Arévalo y cols. 2017 ⁴¹	Aguas residuales	Itagüí	Antioquia	Kit comercial PowerMax® Soil DNA Isolation Kit	Roche 454 FLX Titanium platform	Filo: 14 Género: 15
25	Avellaneda 2014 ⁵⁶	Suelos Agrícolas	PNN los nevados	Quindío	Kit comercial: kit Power Soil DNA	Pirosecuenciacion	Filo: 8 Clase: 14 Orden: 21 Familias: 3 Géneros: 48

							Especies: 40
26	Lizarazo y Gómez 2015 ⁷⁴	Rizósfera	Páramo Santa Inés y de Frontino-Urrao	Antioquia	Kit comercial: ADN PowerSoil® Soil DNA Isolation Kit	Illumina	Filo: 3 Géneros: 6
27	Cisneros y cols. 2017 ⁷⁵	Ceniza volcánica: Andisol	Eje cafetero	Quindío	kit comercial: QIAamp DNA Mini Kit	Illumina	Dominios: 2 Filo: 10
28	Cruz y cols. 2021 ⁷⁶	Cerezas de café recién cosechadas	Sierra Nevada de Santa Marta	Magdalena medio	Kit commercial: extraction kit DNeasy® PowerLyzer® PowerSoil®	Illumina	Géneros: 69
29	Bedoya y cols. 2020 ⁷⁷	Biosólidos de biorreactores anaeróbicos	Itagüí	Antioquia	Kit commercial: Powermax® Soil DNA Isolation Kit	Illumina	Filo: 25 Familias: 3 Géneros: 49
30	Motato y cols. 2017 ⁷⁸	Suero costeño artesanal	Planeta rica y Cauca	Córdoba y Antioquia	Kit commercial: GenElute™ Bacterial Kit de ADN genómico	Illumina	Filo: 4 Orden: 5 Familias: 9 Géneros: 9 Especies: 7
31	Posada y cols. 2019 ⁴⁴	Agua de río y agua residual de hospitales	Bogotá, D.C.	Cundinamarca	No reporta	Illumina	Filo: 8 Orden: 30
32	Rodríguez y cols. 2021 ⁵⁸	Aguas residuales	Medellín	Antioquia	No reporta	Illumina	Filo: 4 Familia: 8
33	Sánchez y Venegas 2020 ⁷⁹	Aguas del río Bogotá cerca de mataderos	Bogotá, D.C.	Cundinamarca	Kit comercial: QIAamp®DNA Blood Mini Kit	No reporta	Especie: 2
34	Rodríguez y cols. 2020 ⁸⁰	Agua de una planta de aguas residuales	Medellín	Antioquia	No reporta	Illumina	Familia: 4 Género: 6 Especie: 8

Esta revisión sistemática analizó estudios realizados con muestras ambientales en Colombia. Se conocen estudios similares en México⁸¹⁻⁸³ y en Brasil⁸⁴⁻⁸⁶, cuyos resultados son comparables a los obtenidos en Colombia para la caracterización de comunidades microbianas en diferentes ambientes, la identificación de metabolitos secundarios y para la biorremediación de ambientes contaminados.

La compilación de estudios sobre metagenómica en Colombia es importante para establecer una línea de base para realizar futuras investigaciones. Por ejemplo, en los departamentos donde hasta la fecha no se han reportado publicaciones sobre el tema, sería importante desarrollar este tipo de estudios para el conocimiento de la biodiversidad bacteriana en estas regiones. En instituciones como la Universidad Santiago de Cali que hasta el momento cuenta con un solo estudio de metagenómica, el presente estudio permite que, en un futuro, los estudiantes y docentes del programa de Microbiología, así como otros investigadores interesados en el tema, puedan contar con una información de base para el planteamiento y desarrollo de estudios relacionados con el tema en el país.

CONCLUSION

Este estudio permitió encontrar un total de 34 publicaciones sobre metagenómica realizados en Colombia. Al analizar estas publicaciones se encontraron 46 especies de bacterias que no están reportados en el SiB y fueron obtenidas a través de estudios de metagenómica. También se encontró que la mayor parte de estudios se han realizado principalmente en la región Andina debido a que en esta región se encuentra ubicado el PNN los nevados que cuenta con gran biodiversidad. Los resultados de este trabajo permitirán la realización de nuevas investigaciones implementando la metagenómica, no solo para el conocimiento de nuevas comunidades bacterianas, sino también identificar metabolitos secundarios o interacciones microbianas que podrían ser de gran utilidad en diferentes tipos de industria.

RECOMENDACIONES

Es importante realizar más estudios sobre metagenómica con el fin de ampliar más la biodiversidad bacteriana que habita en el territorio colombiano.

Los estudios mostraron que la técnica de secuenciación más utilizada ha sido Illumina, pero se podrían aplicar otras técnicas de nueva generación tales como secuenciación Roche 454, la secuenciación Ion torrent para la realización de estos estudios y hacer un comparativo de cuál es la de mayor utilidad.

REFERENCIAS

1. Bar-On YM, Phillips R, Milo R. The biomass distribution on Earth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(25):6506-6511. doi:10.1073/pnas.1711842115
2. Trampe G. Los microbios y la ecología. *Ciencia*. 2017;68.
3. Minciencias. Colombia, país megadiverso. Published 2016. Accedido septiembre 16, 2021. https://minciencias.gov.co/sala_de_prensa/colombia-el-segundo-pais-mas-

biodiverso-del-mundo

4. SIB Colombia. Catálogo de la biodiversidad. Published 2021. Accedido septiembre 17, 2021. <https://catalogo.biodiversidad.co/search/basic?kingdom=bacteria>
5. Chunarkar Patil P, Suresh Panchal P, Madiwale S, Sunil Tale V. An analysis of non-cultivable bacteria using WEKA. *Bioinformation*. 2020;16(8):5. doi:10.6026/97320630016620
6. Alves LDF, Westmann CA, Lovate GL, De Siqueira GMV, Borelli TC, Guazzaroni ME. Metagenomic Approaches for Understanding New Concepts in Microbial Science. *Int J Genomics*. Published online 2018. doi:10.1155/2018/2312987
7. Khan MA, Ghosh A, Khan AM. Metagenomic Analysis and its Applications. *Encycl Bioinforma Comput Biol*. Published online 2018:184-193. doi:10.1016/B978-0-12-809633-8.20178-7
8. New FN, Brito IL. What Is Metagenomics Teaching Us, and What Is Missed? *Annu Rev Microbiol*. 2020;74:117-135. doi:10.1146/annurev-micro-012520-072314
9. Cortés-López N, Montor-Antonio J, Olvera-Carranza C, Peña-Castro J, Moral-Ventura S. Metagenómica: una ventana de oportunidad a nuevos genes y genomas microbianos Molecular determinants of submergence stress tolerance in *Brachypodium* View project Biopharmaceutical View project. *Rev Iberoam Ciencias*. 2014;1 N°7. www.reibci.org
10. Susana P, Raimondi G De. Metagenómica: más allá del genoma de los microorganismos. *Bitácora Digit*. 2013;1(2):1-6.
11. Suarez Moya A. Microbioma y secuenciación masiva. *Rev Esp Quim*. 2017;30(5):305-311.
12. Liu Y-X, Qin Y, Chen T, et al. A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data. *Protein Cell* 2020 125. 2020;12(5):315-330. doi:10.1007/S13238-020-00724-8
13. Gutiérrez P, Alzate J, Marín Montoya M. Pirosecuenciación del Genoma de una Cepa Andina de Potato Virus S (PVS, Carlavirus) Infectando *Solanum phureja* (Solanaceae) en Colombia. *Rev la Fac Ciencias Básicas*. 2012;8(1):84-93. doi:10.18359/rfcb.2098
14. Ventura C, Briones-Roblero CI, Hernández E, Rivera-Orduña FN, Zúñiga G. Comparative analysis of the gut bacterial community of four *Anastrepha* fruit flies (Diptera: Tephritidae) based on pyrosequencing. *Curr Microbiol*. Published online 2018:1-21.
15. Yang Y, Wang N, Guo X, Zhang Y, Ye B. Comparative analysis of bacterial community structure in the rhizosphere of maize by highthroughput pyrosequencing. *PLoS One*. Published online 2017:11.
16. Huaidong H, Waichin L, Riqing Y, Zhihong Y. Illumina-Based Analysis of Bulk and Rhizosphere Soil Bacterial Communities in Paddy Fields Under Mixed Heavy Metal Contamination. *Pedosphere*. 2017;27(3):569-578. doi:10.1016/S1002-0160(17)60352-7
17. Tian XY, Zhang CS. Illumina-based analysis of endophytic and rhizosphere bacterial diversity of the coastal halophyte *Messerschmidia sibirica*. *Front Microbiol*. 2017;8:1-10. doi:10.3389/fmicb.2017.02288
18. Yang, Liu, Ye. Illumina-based analysis of endophytic bacterial diversity of tree peony (*Paeonia* Sect. *Moutan*) roots and leaves. *Brazilian J Microbiol*. 2017;48(4):695-705. doi:10.1016/j.bjm.2017.02.009

19. Adamiak J, Otlewska A, Tafer H, et al. First evaluation of the microbiome of built cultural heritage by using the Ion Torrent next generation sequencing platform. *Int Biodeterior Biodegrad.* 2018;131:11-18. doi:10.1016/j.ibiod.2017.01.040
20. Campisciano G, Toschetti A, Comar M, Taranto R, Berton F, Stacchi C. Shifts of subgingival bacterial population after nonsurgical and pharmacological therapy of localized aggressive periodontitis, followed for 1 year by Ion Torrent PGM platform. *Eur J Dent.* 2017;11(4):192-195. doi:10.4103/ejd.ejd
21. Milani C, Hevia A, Foroni E, et al. Assessing the fecal microbiota: an optimized Ion Torrent 16S rRNA gene-based analysis protocol. *PLoS One.* 2013;8(7):12.
22. Bautista R. Las tres generaciones de la secuenciación. *ResearchGate.* 2010;3(January 2010).
23. Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, et al. Environmental Genome Shotgun Sequencing of the Sargasso Sea. *Science (80-).* 2004;304(5667):66-74. doi:10.1126/science.1093857
24. Carini P, Marsden PJ, Leff JW, Morgan EE, Strickland MS, Fierer N. Relic DNA is abundant in soil and obscures estimates of soil microbial diversity. *Nat Microbiol.* 2016;2(2016). doi:10.1038/nmicrobiol.2016.242
25. Song H, Kerfahi D, Takahashi K, et al. Metagenomic analysis reveals rapid development of soil biota on fresh volcanic ash. *Sci Rep.* 2020;10(1):1-15. doi:10.1038/s41598-020-78413-z
26. Yergeau E, Sanschagrin S, Beaumier D, Greer CW. Metagenomic analysis of the bioremediation of diesel-contaminated canadian high arctic soils. *PLoS One.* 2012;7(1):1-10. doi:10.1371/journal.pone.0030058
27. Fondi M, Rizzi E, Emiliani G, et al. The genome sequence of the hydrocarbon-degrading acinetobacter venetianus VE-C3. *Res Microbiol.* 2013;164(5):439-449. doi:10.1016/j.resmic.2013.03.003
28. Fernández-Niño M, Rodríguez-Cubillos MJ, Herrera-Rocha F, et al. Dissecting industrial fermentations of fine flavour cocoa through metagenomic analysis. *Sci Rep.* 2021;11(1):1-14. doi:10.1038/s41598-021-88048-3
29. Bedoya K, Coltell-Simon O, Cabarcas F, Alzate JF. Metagenomic assessment of the microbial community and methanogenic pathways in biosolids from a municipal wastewater treatment plant in Medellín, Colombia. *Sci Total Environ.* 2019;648(52):572-581. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.08.119
30. Alvarez-Yela AC, Alvarez-Silva MC, Restrepo S, et al. Influence of agricultural activities in the structure and metabolic functionality of paramo soil samples in Colombia studied using a metagenomics analysis in dynamic state. *Ecol Modell.* 2017;351:63-76. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2017.02.010>
31. Caguazango JC, Pazos ÁJ. La microbiota según la topografía gástrica en pacientes con bajo y con alto riesgo de cáncer gástrico en Nariño, Colombia. *Biomedica.* 2019;39(2):157-171. doi:10.7705/biomedica.v39i4.4520
32. Suárez Silva YA. Análisis de la funcionalidad y diversidad microbiana en suelos dedicados al cultivo de papa criolla (*Solanum phureja*) mediante una aproximación metagenómica. Published online 2010.
33. Lizarazo-Medina PX, Cabarcas Jaramillo F, Alzate JF. Microbiota bacteriana asociada al papel moneda de circulación en Colombia. *Infectio.* 2016;20(4):218-224. doi:10.1016/j.infect.2015.10.010
34. Mantilla MJ, Torres Sáez RG. Enfoque metagenómico para la caracterización del

- microbioma de aves corral. Revisión. *Rev Colomb Biotechnol.* 2019;21(2):77-97. doi:10.15446/rev.colomb.biote.v21n2.78390
35. González Calle CA, Cardona Arias JA. Systematic Review about Mobile Genetic Elements Carriers of Genes of Antibiotic Resistance in Waste Water. Published online 2018:1-7. doi:10.3823/1387
 36. Fernández Gaviria A, Herrera Arbeláez V. Aproximación metagenómica para la identificación de bacterias endófitas de la raíz de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) bajo condiciones de estrés abiótico. Published online 2019.
 37. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *PLoS Med.* 2021;18(3).
 38. Rosero DA, Del Corral H. Contribución del análisis RFLP del IS6110 de *Mycobacterium tuberculosis* al diseño y refinamiento de estrategias para el control de la tuberculosis en Colombia. *Infectio.* 2008;12(3):175-191.
 39. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev* 2016 51. 2016;5(1):1-10. doi:10.1186/S13643-016-0384-4
 40. Ojeda D, Barbosa C, Pinto J, et al. Ecosistemas del país. *Anal Standar Pelayanan Minimal Pada Instal Rawat Jalan di RSUD Kota Semarang.* 2015;3:103-111.
 41. Arévalo-Arbeláez ÁJ, Bedoya-Urrego K, Cabarcas-Jaramillo F, Alzate-Restrepo JF. Descripción de la microbiota bacteriana residente en el biosólido generado en la planta de tratamiento de aguas residuales San Fernando. Itagüí, Colombia. *Rev Salud Pública.* 2017;19(6):806-813. doi:10.15446/rsap.v19n6.67950
 42. Ruiz-Moreno HA, López-Tamayo AM, Caro-Quintero A, Husserl J, González Barrios AF. Metagenome level metabolic network reconstruction analysis reveals the microbiome in the Bogotá River is functionally close to the microbiome in produced water. *Ecol Modell.* 2019;399(August 2018):1-12. doi:10.1016/j.ecolmodel.2019.02.001
 43. Sánchez-Alfonso AC, Venegas C, Díez H, et al. Microbial indicators and molecular markers used to differentiate the source of faecal pollution in the Bogotá River (Colombia). *Int J Hyg Environ Health.* 2020;225(January):113450. doi:10.1016/j.ijheh.2020.113450
 44. Posada-Perlaza CE, Ramírez-Rojas A, Porras P, et al. Bogotá River anthropogenic contamination alters microbial communities and promotes spread of antibiotic resistance genes. *Sci Rep.* 2019;9(1):1-13. doi:10.1038/s41598-019-48200-6
 45. Parra Meneses W. Análisis comparativo de la topología de redes metabólicas en una muestra metagenómica de aguas termales en el Parque Natural de Los Nevados en Colombia. Published online 2011.
 46. Parques Nacionales Naturales de Colombia. Parque Nacional Natural Los Nevados Parques Nacionales Naturales De Colombia Direccion Territorial Andes Occidentales Manizales Abril De 2017. *Unidad Adm Espec del Sist Parques Nac Nat.* Published online 2017.
 47. Jiménez DJ, Zambrano MM. Metagenome of Acidic Hot Spring Microbial Planktonic Community: Structural and Functional Insights. *Encycl Metagenomics.* Published online 2013. doi:10.1007/978-1-4614-6418-1
 48. Montaña Lara JS. Aproximación metagenómica para la identificación de enzimas lipolíticas en suelo de busque alto andino del parque nacional natural los nevados. Published online 2015:1-127.

- <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/17002>
49. Sandoval López IR, Zambrano Eder MM, Reyes Muñoz A, González Barrios AF. Computational tool for in silico screening of biosurfactants in metagenomic libraries. Published online 2015.
 50. Cienciágora. Colombia nuevo centro de excelencia en genómica - Actualidad de ciencia. cienciágora universia. Published 2007. Accedido noviembre 4, 2021. https://cienciagora.universia.net.co/infodetail/novedades_de_ciencia/actualidad/colombia-nuevo-centro-de-excelencia-en-genomica-284.html
 51. Resolucion_0425. MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE).
 52. República de Colombia – gobierno nacional. Decreto 417 del 17 de marzo del 2020. Disponible en: <https://www.mininterior.gov.co/la-institucion/normatividad/decreto-417-de-2020>.
 53. Montaña Lara JS. Aproximación metagenómica para la identificación de enzimas lipolíticas en suelo de busque alto andino del parque nacional natural los nevados. Published online 2015. <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/17002>
 54. Alvarez-Yela AC, Alvarez-Silva MC, Restrepo S, et al. Influence of agricultural activities in the structure and metabolic functionality of paramo soil samples in Colombia studied using a metagenomics analysis in dynamic state. *Ecol Modell*. 2017;351:63-76. doi:10.1016/j.ecolmodel.2017.02.010
 55. Pacheco KV, Quintero WV, Mantilla-Paredes AJ, Jaimes W, Torrado J, Zafra G. Functional metagenomic analysis of the coffee (coffea arabica) fermentation. *Chem Eng Trans*. 2018;64:355-360. doi:10.3303/CET1864060
 56. Avellaneda Torres LM. Caracterización de comunidades microbianas asociadas a prácticas agrícolas y usos del suelo de la vereda El Bosque - Parque Nacional Natural de los Nevados. *Tesis Dr*. Published online 2014:197.
 57. Bejarano Bonilla LX. Identificación molecular de comunidades bacterianas del suelo presentes en una muestra del corredor monos (Filandia-Quindío). *J Chem Inf Model*. 2013;53(9):1689-1699.
 58. Rodríguez EA, Ramirez D, Balcázar JL, Jiménez JN. Metagenomic analysis of urban wastewater resistome and mobilome: A support for antimicrobial resistance surveillance in an endemic country. *Environ Pollut*. 2021;276. doi:10.1016/j.envpol.2021.116736
 59. Caraballo Guzmán A, González Hurtado MI, Cuesta-Astroz Y, Torres G. Metagenomic characterization of bacterial biofilm in four food processing plants in Colombia. *Brazilian J Microbiol*. 2020;51(3):1259-1267. doi:10.1007/s42770-020-00260-x
 60. Jiménez DJ, Montaña JS, Álvarez D, Baena S. A novel cold active esterase derived from Colombian high Andean forest soil metagenome. *World J Microbiol Biotechnol*. 2012;28(1):361-370. doi:10.1007/s11274-011-0828-x
 61. García G. M, Márquez G. MA, Moreno HCX. Characterization of bacterial diversity associated with calcareous deposits and drip-waters, and isolation of calcifying bacteria from two Colombian mines. *Microbiol Res*. 2016;182:21-30. doi:10.1016/j.micres.2015.09.006
 62. Palma Medina LM, Ardila DC, Zambrano MM, Restrepo S, González Barrios AF. In vitro and in silico characterization of metagenomic soil-derived cellulases capable of hydrolyzing oil palm empty fruit bunch. *Biotechnol Reports*. 2017;15:55-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2017.06.003>

63. Bedoya K, Coltell-Simon O, Cabarcas F, Alzate JF. Metagenomic assessment of the microbial community and methanogenic pathways in biosolids from a municipal wastewater treatment plant in Medellín, Colombia. *Sci Total Environ*. 2019;648(52):572-581. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.119>
64. Ruiz-Moreno HA, López-Tamayo AM, Caro-Quintero A, Husserl J, González Barrios AF. Metagenome level metabolic network reconstruction analysis reveals the microbiome in the Bogotá River is functionally close to the microbiome in produced water. *Ecol Modell*. 2019;399:1-12. doi:10.1016/j.ecolmodel.2019.02.001
65. Torres GG, Figueroa-Galvis I, Muñoz-García A, Polanía J, Vanegas J. Potential bacterial bioindicators of urban pollution in mangroves. *Environ Pollut*. 2019;255:9. doi:10.1016/j.envpol.2019.113293
66. Vanegas J, Muñoz-García A, Pérez-Parra KA, Figueroa-Galvis I, Mestanza O, Polanía J. Effect of salinity on fungal diversity in the rhizosphere of the halophyte *Avicennia germinans* from a semi-arid mangrove. *Fungal Ecol*. 2019;42:1-9. doi:10.1016/j.funeco.2019.07.009
67. Coronado Vélez M. Microbiota de la leche cruda de bovinos infectados con mastitis subclínica analizados mediante secuenciación del gen 16S rRNA. Published online 2019.
68. Sierra MA, Danko DC, Sandoval TA, et al. The Microbiomes of Seven Lichen Genera Reveal Host Specificity, a Reduced Core Community and Potential as Source of Antimicrobials. *Front Microbiol*. 2020;11:1-12.
69. Muñoz-García A, Mestanza O, Isaza JP, Figueroa-Galvis I, Vanegas J. Influence of salinity on the degradation of xenobiotic compounds in rhizospheric mangrove soil. *Environ Pollut*. 2019;249:750-757.
70. Bedoya K, Niño J, Acero J, Cabarcas F, Alzate JF. Assessment of the microbial community and biocide resistance profile in production and injection waters from an Andean oil reservoir in Colombia. *Int Biodeterior Biodegrad*. 2021;157.
71. Calderon D, Peña L, Suarez A, et al. Recovery and functional validation of hidden soil enzymes in metagenomic libraries. *Microbiologyopen*. 2017;8(4):1-11. doi:10.1002/mbo3.572
72. Pacheco KV, Quintero WV, Mantilla-Paredes AJ, Jaimes W, Torrado J, Zafra G. Functional metagenomic analysis of the coffee (*coffea arabica*) fermentation. *Chem Eng Trans*. 2018;64(May):355-360. doi:10.3303/CET1864060
73. Yarzabal LA, Chica EJ, Quichimbo P. Agriculturally important microbes for sustainable agriculture. *Agric Important Microbes Sustain Agric*. 2017;1:1-356.
74. Lizarazo Medina PX, Gómez Vazquez D. Rhizospheric Microbiota of *Espeletia* spp. from Santa Inés and Frontino-Urrao Paramos in Antioquia, Colombia. *Acta Biológica Colomb*. 2015;20(1):175-182. doi:10.15446/abc.v20n1.42827
75. Cisneros Rojas CA, Sánchez de Prager M, Menjivar Flores JC. Identificación de bacterias solubilizadoras de fosfatos en un Andisol de la región cafetera colombiana. *Rev Colomb Biotecnol*. 2017;19(1):21-28. doi:10.15446/rev.colomb.biote.v19n1.65966
76. Cruz-O'Byrne R, Piraneque-Gambasica N, Aguirre-Forero S. Microbial diversity associated with spontaneous coffee bean fermentation process and specialty coffee production in northern Colombia. *Int J Food Microbiol*. 2021;354:109282. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109282>
77. Bedoya K, Hoyos O, Zurek E, Cabarcas F, Alzate JF. Annual microbial community

dynamics in a full-scale anaerobic sludge digester from a wastewater treatment plant in Colombia. *Sci Total Environ.* 2020;726:138479.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138479>

78. Motato KE, Milani C, Ventura M, Valencia FE, Ruas-Madiedo P, Delgado S. Bacterial diversity of the Colombian fermented milk “Suero Costeño” assessed by culturing and high-throughput sequencing and DGGE analysis of 16S rRNA gene amplicons. *Food Microbiol.* 2017;68:129-136. doi:10.1016/j.fm.2017.07.011
79. Sánchez-Alfonso AC, Venegas C, Díez H, et al. Microbial indicators and molecular markers used to differentiate the source of faecal pollution in the Bogotá River (Colombia). *Int J Hyg Environ Health.* 2020;225:113450. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113450>
80. Rodríguez EA, Garzón LM, Gómez ID, Jiménez JN. Multidrug resistance and diversity of resistance profiles in carbapenem-resistant Gram-negative bacilli throughout a wastewater treatment plant in Colombia. *J Glob Antimicrob Resist.* 2020;22:358-366. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.02.033>
81. Serrano-Silva N, Calderón-Ezquerro MC. Metagenomic survey of bacterial diversity in the atmosphere of Mexico City using different sampling methods. *Environ Pollut.* 2018;235:20-29. doi:10.1016/j.envpol.2017.12.035
82. Barcelos Santiago C. Caracterización de las comunidades microbianas presentes en los sedimentos de Perdido y Coatzacoalcos del Golfo de México mediante análisis metagenómicos. Published online 2018.
83. Zhao R, Summers ZM, Christman GD, Yoshimura KM, Biddle JF. Metagenomic views of microbial dynamics influenced by hydrocarbon seepage in sediments of the Gulf of Mexico. *Sci Rep.* 2020;10(1):1-13. doi:10.1038/s41598-020-62840-z
84. Meneghini AK, Nielsen S, Varani AM, Thomas T, Alves LMC. Metagenomic analysis of soil and freshwater from zoo agricultural area with organic fertilization. *PLoS One.* 2017;12(12):1-20. doi:10.1371/journal.pone.0190178
85. Gastauer M, Ortiz Vera MP, Pandovani de Souza K, et al. Data descriptor: A metagenomic survey of soil microbial communities along a rehabilitation chronosequence after iron ore mining. *Sci Data.* 2019;6(December 2018):1-10. doi:10.1038/sdata.2019.8
86. Ceccon DM, Faoro H, Lana P da C, de Souza EM, Pedrosa F de O. Metataxonomic and metagenomic analysis of mangrove microbiomes reveals community patterns driven by salinity and pH gradients in Paranaguá Bay, Brazil. *Sci Total Environ.* 2019;694. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.133609

Anexo 1. Certificado de participación como ponente en el evento ACIET



Anexo 2. Certificado de participación como ponente en el XVII encuentro interno de investigación formativa de la Universidad Santiago de Cali.



Anexo 3. Listado de géneros y especies bacterianas registradas en el SiB Colombia (color negro) y encontradas en este estudio (color rojo)

Género *Arthrobacter*

1. *Arthrobacter nicotinovorans*
Arthrobacter aurescens

Género *Aeromonas*

2. *Aeromonas veronii*
3. *Aeromonas bivalvium*

Género *Aeromicrobium*

4. *Aeromicrobium erythreum*

Género *Acinetobacter*

5. *Acinetobacter nosocomialis*
6. *Acinetobacter gyllenbergii*
7. *Acinetobacter baumannii*
Acinetobacter schindleri
Acinetobacter lwoffii

Género *Agromyces*

8. *Agromyces*

Género *Acidithiobacillus*

- Acidithiobacillus caldus*
Acidithiobacillus ferrooxidans

Género *Acidiphillum*

- Acidiphillum cryptum*

Género *Acidothermus*

- Acidothermus cellulolyticus*

Género *Alochyomatium*

- Alochyomatium vinosum*

Género *Actinomyces*

- Actinomyces odontolyticu*

Género *Anaerostipes*

- Anaerostipes hadrus*

Género *Arenimonas*

- Arenimonas donghaensis*

Género *Burkholderia*

- 9. *Burkholderia glathei*
- 10. *Burkholderia cepacia*
- 11. *Burkholderia gladioli*

Género *Brevibacillus*

- 12. *Brevibacillus reuszeri*
- 13. *Brevibacillus choshinensis*
- 14. *Brevibacillus brevis*

Género *Bacillus*

- 15. *Bacillus thuringiensis*
- 16. *Bacillus subtilis*
- 17. *Bacillus simplex*
- 18. *Bacillus pumilus*
- 19. *Bacillus megaterium*
- 20. *Bacillus gottheilii*
- 21. *Bacillus circulans*
- 22. *Bacillus aryabhattai*
- 23. *Bacillus cereus*

Género *Bacteroides*

- Bacteroides dorei*
- Bacteroides barnesiae*
- Bacteroides salanitronis*

Género *Brevundimonas*

- Brevundimonas diminuta*

Género *Bradyrhizobium*

- Bradyrhizobium elkanii*

Género *Blautia*

- Blautia producta*

Género *Chitinophaga*

- 24. *Chitinophaga arvensicola*

Género *Calothrix*

- 25. *Calothrix crustacea*

Género *Clostridium*

- 26. *Clostridium perfringens*

Género *Chryseobacterium*

- Chryseobacterium indologenes*

Género *Conexibacter*

Conexibacter woesei

Género *Cellulomas*

Cellulomas flavigena

Género *Cupriavidus*

Cupriavidus metallodurans

Género *Dickeya*

27. *Dickeya chrysanthemi*

Género *Dermacoccus*

28. *Dermacoccus nishinomiyaensis*

Género *Deinococcus*

29. *Deinococcus swuensis*

Género *Deefgea*

Deefgea chitinilytica

Género *Devosia*

Devosia riboflavia

Género *Desulfovibrio*

Desulfovibrio cuneatus

Género *Escherichia*

30. *Escherichia coli*

Género *Enterococcus*

31. *Enterococcus faecalis*

Género *Ensifer*

Ensifer adhaerens

Género *Frankia*

Frankia sp.

Género *Geobacillus*

32. *Geobacillus stearothermophilus*

Geobacillus teobii

Género *Helicobacter*

33. *Helicobacter pylori*

Género *Jonesia*

Jonesia denitriticans

Género *Klebsiella*

34. *Klebsiella pneumoniae*

Género *Lactobacillus*

35. *Lactobacillus casei*

Lactobacillus iners

Lactobacillus agilis

Lactobacillus salivarius

Lactobacillus aviarius

Género *Listeria*

36. *Listeria monocytogenes*

Género *Lysinibacillus*

37. *Lysinibacillus sphaericus*

38. *Lysinibacillus fusiformis*

Género *Lyngbya*

39. *Lyngbya sordida*

40. *Lyngbya majuscula*

Género *Mycobacterium*

41. *Mycobacterium tuberculosis*

42. *Mycobacterium colombiense*

Género *Microbispora*

43. *Microbispora nonomura*

Género *Methylobacterium*

Methylobacterium adhaesivum

Género *Nocardia*

44. *Nocardia Trevisan*

Nocardia veterana

Género *Nocardopsis*

45. *Nocardopsis* sp.

Género *Neisseria*

46. *Neisseria gonorrhoeae*

Género *Nonomura*

47. *Nonomura* sp.

Género *Nocardioides*

Nocardioides simplex

Género *Noyosphingobium*

Novosphingobium aromaticivorans

Género *Oscillatoria*

48. *Oscillatoria princeps*

49. *Oscillatoria lutea*

50. *Oscillatoria submembranaceae*

Género *Pseudomonas*

51. *Pseudomonas syringae*

52. *Pseudomonas putida*

53. *Pseudomonas psychrophila*

54. *Pseudomonas migulae*

55. *pseudomonas mandelii*

56. *pseudomonas lini*

57. *Pseudomonas jessenii*

58. *Pseudomonas graminis*

59. *Pseudomonas fragi*

60. *Pseudomonas fluorescens*

61. *Pseudomonas congelans*

62. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas monteilii

Pseudomonas alcaligenes

Pseudomonas pseudoalcaligenes

Género *Paenibacillus*

63. *Paenibacillus terrae*

64. *Paenibacillus humicus*

65. *Paenibacillus cineris*

66. *Paenibacillus amylolyticus*

Género *Planktothrix*

67. *Planktothrix agardhii*

Género *Pedobacter*

68. *Pedobacter jejuensis*

Género *Pantoea*

69. *Pantoea ananatis*

70. *Pantoea agglomerans*

Género *Proteus*

71. *Proteus mirabilis*

Género *Pseudoxanthomonas*

Pseudoxanthomonas donghaensis

Género *Rickettsia*

72. *Rickettsia bellii*

Género *Roseomonas*

73. *Roseomonas gilardii*

Género *Rhodococcus*

74. *Rhodococcus tukisamuensis*

75. *Rhodococcus erythropolis*

Rhodococcus justii

Género *Ralstonia*

76. *Ralstonia solanacearum*

77. *Ralstonia pickettii*

Género *Rahnella*

78. *Rahnella aquatilis*

Género *Rhizobium*

79. *Rhizobium rhizogenes*

Rhizobium leguminosarum

Género *Streptomyces*

80. *Streptomyces microflavus*

81. *Streptomyces lunalinharesii*

82. *Streptomyces avidinii*

83. *Streptomyces aureus*

84. *Streptomyces albospinus*

85. *Streptomyces Waksman*

Streptomyces coelicolor

Streptomyces suiceus

Streptomyces mutabilis

Género *Stenotrophomonas*

86. *Stenotrophomonas rhizophila*

87. *Stenotrophomonas maltophilia*

Género *Spirulina*

88. *Spirulina subsalsa*

Género *Sphingomonas*

89. *Sphingomonas paucimobilis*

Sphingomonas melonis

Género *Schizothrix*

90. *Schizothrix mexicana*

91. *Schizothrix calcicola*

Género *Saccharomonospora*

92. *Saccharomonospora* sp.

Género *Streptococcus*

93. *Streptococcus pyogenes*

Género *Salmonella*

94. *Salmonella typhi*

95. *Salmonella enterica*

Género *Serratia*

96. *Serratia marcescens*

Género *Shewanella*

Shewanella amazonensis

Género *Stackebrandtia*

Stackebrandtia nassanensis

Género *Sphingobium*

Sphingobium chungbukense

Género *Siphonobacter*

Siphonobacter aquaeclarae

Género *Variovorax*

97. *Variovorax soli*

Género *Vibrio*

98. *Vibrio cholerae*

Género *Xanthomonas*

99. *Xanthomonas campestris*

100. *Xanthomonas axonopodis*