

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Análisis Metagenómico de la Microbiota de *Drosophila mesophragmatica*:
Caracterización de Especies Bacterianas y Exploración de Relaciones
Simbióticas**

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado/a en Microbiología

DIEGO ALEJANDRO RODRIGUEZ VACA

Quito, 2024

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas del señor Diego Alejandro Rodríguez Vaca ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.



Doris Jimena Vela Peralta
Directora de la Disertación
Quito, 8 de julio del 2024

DEDICATORIA

A mis padres y a mi hermana,

Por su amor, comprensión, paciencia y apoyo desde el primer día que puse un pie en un salón de clases hasta este momento.

AGRADECIMIENTOS

En primero lugar, y, sobre todo, a mi familia, que con su amor incondicional me han dado las fuerzas para sobrellevar las situaciones más difíciles, tanto en la universidad, en el trabajo y en mi vida personal.

A mis compañeros y amigos del hospital Animal Solutions que, además de abrirme las puertas, se ha vuelto mi segundo hogar, con su apoyo y comprensión en todo este proceso.

A la PhD. Doris Vela, por su tutela y porque me brindó la oportunidad de realizar con ella esta investigación, abriéndome las puertas a su laboratorio y a la genética.

También quiero agradecer a Francisco Flores, porque sin sus conocimientos y herramientas proporcionadas esta investigación se habría tornado mucho más complicada.

TABLA DE CONTENIDO

CERTIFICACIÓN.....	III
DEDICATORIA.....	IV
AGRADECIMIENTOS.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	VII
1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	6
OBJETIVO GENERAL:.....	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	6
4. MATERIALES Y MÉTODOS	7
4.1 TIPO DE ESTUDIO.....	7
4.2 IMPORTACION DE SECUENCIAS.....	7
4.3 ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE LAS SECUENCIAS	7
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
5.1 ANÁLISIS DE CALIDAD.....	9
5.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	9
5.3 IDENTIFICACIÓN DE RUTAS METABÓLICAS	12
6. CONCLUSIONES	15
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico de barras apiladas mostrando la distribución de géneros bacterianos en la muestra de <i>Drosophila mesophragmatica</i>	10
Figura 2. Visualización de Krona mostrando la diversidad taxonómica de la microbiota en la muestra de <i>Drosophila mesophragmatica</i>	12
Figura 3. Análisis de las rutas metabólicas presentes en el genoma ensamblado de la microbiota simbiote de <i>Drosophila mesophragmatica</i>	14

1. RESUMEN

La biodiversidad es esencial para el equilibrio de los ecosistemas, y la microbiota juega un papel crucial en la salud de los organismos. En este contexto, la investigación se centró en la caracterización de la microbiota de *Drosophila mesophragmatica*, una especie poco estudiada, mediante análisis metagenómico. El objetivo general fue identificar y caracterizar las bacterias presentes en la mosca y sus posibles relaciones simbióticas. Utilizando secuenciación de próxima generación (Illumina) y herramientas bioinformáticas, se evaluó la diversidad y abundancia relativa de las bacterias. Los resultados revelaron una comunidad bacteriana diversa con géneros predominantes como Akkermansia, Morganella, Gluconobacter, Acinetobacter, Providencia y Escherichia. Además, se identificaron genes relacionados con rutas metabólicas clave, incluyendo la reducción y oxidación del nitrógeno, la reducción del arsenato y la conversión del acetato a metano, así como rutas metabólicas específicas como el ciclo del glioxilato, la glucólisis, la fosforilación oxidativa y la vía de las pentosas fosfato. Estos hallazgos sugieren que las bacterias desempeñan funciones cruciales en la fisiología del hospedador, como la descomposición y digestión de alimentos, la síntesis de nutrientes esenciales, la competencia con patógenos y la estimulación del sistema inmune. Además, las rutas metabólicas identificadas, como la reducción del arsénico y la metanogénesis, indican un papel en la detoxificación y el mantenimiento del equilibrio ambiental en el intestino del hospedador. La investigación no solo logró caracterizar la microbiota de *Drosophila mesophragmatica*, sino que también proporcionó una base para entender las relaciones simbióticas entre las bacterias identificadas y su hospedador, destacando los beneficios potenciales en términos de salud y nutrición. Estos hallazgos son fundamentales para comprender la ecología microbiana y la evolución de las interacciones hospedador-microbiota, abriendo nuevas oportunidades para aplicaciones biotecnológicas y ecológicas.

Palabras clave:

Drosophila, *mesophragmatica*, simbiosis, metabólicas, metagenómica

2. ABSTRACT

Biodiversity is essential for the balance of ecosystems, and the microbiota plays a crucial role in the health of organisms. In this context, the research focused on the characterization of the microbiota of *Drosophila mesophragmatica*, a poorly studied species, through metagenomic analysis. The general objective was to identify and characterize the bacteria present in the fly and their possible symbiotic relationships. Using next-generation sequencing (Illumina) and bioinformatics tools, the diversity and relative abundance of the bacteria were evaluated. The results revealed a diverse bacterial community with predominant genera such as Akkermansia, Morganella, Gluconobacter, Acinetobacter, Providencia and Escherichia. In addition, genes related to key metabolic pathways were identified, including nitrogen reduction and oxidation, arsenate reduction, and acetate conversion to methane, as well as specific metabolic pathways such as the glyoxylate cycle, glycolysis, phosphorylation oxidation and the pentose phosphate pathway. These findings suggest that bacteria play crucial roles in host physiology, such as food breakdown and digestion, synthesis of essential nutrients, competition with pathogens, and stimulation of the immune system. Furthermore, the identified metabolic pathways, such as arsenic reduction and methanogenesis, indicate a role in detoxification and maintenance of environmental balance in the host intestine. The research not only managed to characterize the microbiota of *Drosophila mesophragmatica*, but also provided a basis for understanding the symbiotic relationships between the identified bacteria and their host, highlighting the potential benefits in terms of health and nutrition. These findings are fundamental to understanding microbial ecology and the evolution of host-microbiota interactions, opening new opportunities for biotechnological and ecological applications.

Keywords:

Drosophila, *mesophragmatica*, symbionts, metabolic, metagenomics

3. INTRODUCCIÓN

El concepto de biodiversidad se refiere en general a la variabilidad de la vida y a los ecosistemas: es un concepto fundamental, complejo y general, que abarca todo el espectro de organización biológica, desde genes hasta comunidades y sus componentes estructurales, funcionales y de composición (Núñez et al., 2003). Sin embargo, dentro de esta variabilidad existen muchos organismos pertenecientes a cada uno de los dominios de la vida que se mantienen en desconocimiento como es el caso de la mosca de la fruta *Drosophila mesophragmatica*, sobre todo en un punto caliente de biodiversidad como lo es el territorio ecuatoriano. Estudiarlos nos permite entender mejor cómo funcionan los ecosistemas locales y cómo estas especies interactúan con su entorno, incluyendo su microbiota.

Por si fuera poco, la microbiota de las especies sin caracterizar no se limita únicamente al registro y documentación para la preservación de la diversidad, sino que muchas pueden ser usadas por nosotros en diferentes ámbitos. Estas comunidades microbianas pueden contener microorganismos con potencial biotecnológico, como en la producción de enzimas útiles, biocombustibles u otros productos de interés industrial o médico (Ortíz et al., 2019). Estudiar estas comunidades microbianas podría abrir nuevas oportunidades en biotecnología, por lo que también entra en juego el uso de herramientas de análisis molecular para aislar genes, identificar que proteínas se sintetizan y en base a esto, como podrían llegar a ser aprovechables

Una de las bases fundamentales dentro del estudio de la ecología y que mantiene el equilibrio de los ecosistemas son las relaciones entre organismos (Pascual et al., 2022). Dentro de estas relaciones los principales y a menudo subestimados actores son el conjunto de microorganismos que habitan un entorno específico denominado microbiota. Esta microbiota puede mantener diferentes tipos de relaciones con su hospedero, tanto positivas como negativas, entre las cuales se encuentran mutualismo, comensalismo, parasitismo y simbiosis (Pascual et al., 2022). Este último nivel de interacción tiene la característica de ofrecer un beneficio mutuo tanto para el organismo huésped como para su hospedero, los cuales no pueden ser conseguidos de manera individual. Para los hospederos, otorga protección contra patógenos,

mientras que los organismos huésped pueden obtener nutrientes y otros recursos como protección y un hábitat en el que se desarrollan sin complicaciones (Iltis et al., 2022).

La piel actúa como la primera línea de defensa para cualquier organismo pluricelular. En su superficie, conviven bacterias, hongos y parásitos que forman un complejo ecosistema interactuando constantemente con el organismo huésped. Este ecosistema desempeña un papel crucial en la protección de la piel, funcionando tanto como una barrera física como una barrera inmunológica (Patiño & Morales, 2013). Esto funciona principalmente porque las bacterias logran adaptarse a un ambiente tan inhóspito e inestable como lo es la piel y logran colonizar este órgano, impidiendo la proliferación de microbiota transitoria.

En el caso de bacterias simbiotas presentes en el tracto intestinal, estas son reconocidas como un ecosistema complejo y dinámico que interactúa estrechamente con el hospedador y desempeña un papel crucial en su fisiología y función (Garza-Velasco et al., 2021). Sus mecanismos de acción afectan directamente a varios puntos importantes de la salud del huésped como en la descomposición y digestión de los alimentos, especialmente de componentes que son difíciles de digerir por sí mismo por medio de la producción de enzimas específicas (Iltis et al., 2022). Adicional a esto, ayudan en la síntesis de nutrientes esenciales que el huésped no puede producir por sí mismo como vitaminas y aminoácidos, la competencia con los patógenos por los recursos y el espacio en el intestino, la estimulación del sistema inmune e incluso se ha observado que la microbiota puede afectar la reproducción, el desarrollo larvario, la longevidad y la resistencia al estrés de los insectos (Ángel-Sánchez & Galián, 2022).

Conociendo todo el impacto positivo y la relevancia que puede llegar a tener el ecosistema microbiano presente en *Drosophila*, la caracterización de las especies bacterianas que están involucradas de manera específica en un organismo es de vital importancia en la salud de los insectos y, en consecuencia, en el equilibrio del medio ambiente (Bonilla-Rosso et al., 2008). Conocer la composición de los microorganismos que habitan el interior del huésped nos sirve para comprender la diversidad microbiana y su función en el hospedador, así como para identificar posibles cambios en respuesta a diferentes factores (Ángel-Sánchez

& Galián, 2022).

Bajo este enfoque, la utilización de tecnologías moleculares resulta en una alternativa a considerar para la identificación y clasificación taxonómica de especies simbioses presentes en el tracto intestinal de un organismo. La secuenciación de ADN es una metodología fundamental en la investigación científica, ya que permite estudiar la diversidad genética, identificar mutaciones, comprender la evolución de las especies, entre otros aspectos. Con este potencial en mente se abre la metagenómica, siendo este el análisis funcional y de secuencias de los genomas microbianos colectivos contenidos en una muestra (Bonilla-Rosso et al., 2008). Esto ha revolucionado las ciencias ecológicas al permitir el análisis simultáneo de la caracterización taxonómica de las especies contenidas en una comunidad y las funciones que pueden desempeñar.

Siendo *Drosophila* un grupo de organismos de un alto nivel de relevancia para la investigación científica y teniendo más de 1000 especies descritas actualmente (Guillín & Rafael, 2017), siempre se está en una constante búsqueda de nuevas especies que contribuyan a construir nuevos modelos de estudio. Desde esta perspectiva, la especie *Drosophila mesophragmatica* se convierte en un potencial candidato para estudiar las relaciones simbióticas que puede establecer un organismo con bacterias huéspedes. Debido a la falta de estudios realizados hasta la fecha sobre la caracterización y comprensión de la microbiota de *D. mesophragmatica*, el presente trabajo busca llenar esa brecha crítica en nuestro entendimiento de las relaciones hospedador-microbiota y sus efectos en la adaptación y la salud del hospedador, lo que puede tener implicaciones más amplias en la biología evolutiva y la ecología microbiana.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Caracterizar la microbiota simbiote de *Drosophila mesophragmatica* y sus posibles relaciones simbióticas mediante análisis metagenómico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- a) Evaluar la diversidad y abundancia relativa de las bacterias presentes en *Drosophila mesophragmatica*.
- b) Identificar los genes correspondientes a rutas metabólicas presentes en los organismos bacterianos.
- c) Determinar las relaciones simbióticas entre las bacterias identificadas y su hospedador, centrándose en posibles beneficios para la salud y nutrición.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Este análisis partió de datos crudos de secuenciación Illumina realizados previamente en MacroGen Inc. (Seoul, Corea).

4.1 Tipo de Estudio

Este trabajo se clasifica como un estudio demostrativo porque no implica la realización de nuevos experimentos, sino que se centra en el análisis de datos crudos previamente obtenidos. Utilizando herramientas bioinformáticas, se ha llevado a cabo una caracterización de la microbiota de *Drosophila mesophragmatica* a partir de secuencias de ADN obtenidas mediante secuenciación Illumina. Este enfoque demuestra la capacidad de las técnicas bioinformáticas para interpretar grandes volúmenes de datos genómicos y extraer información valiosa sobre la composición y las características de la microbiota.

4.2 Importación de secuencias

Para el análisis de las secuencias, la clasificación taxonómica, y la identificación de rutas metabólicas se usó la plataforma en línea Kbase. Con ella se consiguieron aplicar diferentes herramientas para la obtención de datos relevantes siguiendo la metodología de Chivian et al. (2022). El análisis empezó con la importación de los 2 archivos crudos entregados por MacroGen (Dmeso_1.fastq.gz y Dmeso_2.fastq.gz) como secuencias forward y reverse respectivamente.

4.3 Análisis bioinformático de las secuencias

Empezando con el análisis de calidad de las secuencias, se utilizó FastQC debido a que proporciona una evaluación integral y detallada de diversos parámetros de calidad y sus informes visuales intuitivos facilitan la identificación rápida de problemas. Para la clasificación taxonómica se usó Kaiju, la cual es una herramienta que reconoce de forma rápida y sensible las lecturas de secuenciación de alto rendimiento de experimentos de secuenciación metagenómica del genoma completo (Menzel et al., 2016). Tanto para el análisis de calidad como para la clasificación taxonómica se utilizó el archivo de las secuencias pareadas y se lo procesó directamente con los programas.

Finalmente, para la identificación de rutas metabólicas se usó DRAM la cual es una herramienta que permite una anotación mejorada de los atributos de los genomas, facilitando la interpretación del potencial metabólico de comunidades microbianas a gran escala (Shaffer et al., 2020).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Análisis de calidad

Al realizar la importación de archivos en la plataforma se obtuvo un solo archivo de librería pareada, del cual se revisó la calidad de la secuencia con FastQC. En general, los resultados mostraron que la calidad de las bases era alta, con la mayoría de las lecturas presentando un puntaje Phred superior a 30. El gráfico de "Per base sequence quality" confirmó que las lecturas mantenían una alta calidad a lo largo de su longitud. Además, el análisis de duplicación de secuencias reveló un bajo porcentaje de lecturas duplicadas, sugiriendo una cobertura uniforme sin sobre-posición de secuencias específicas.

Sin embargo, se observaron algunas anomalías en los gráficos de "Per base sequence content" y "Per sequence GC content". El gráfico de "Per base sequence content" indicó variaciones en la proporción de bases específicas a lo largo de la longitud de las lecturas. Asimismo, el gráfico de "Per sequence GC content" mostró que el contenido de GC de las secuencias variaba más de lo esperado. A pesar de estas observaciones, los resultados generales de FastQC indicaron que las secuencias eran de alta calidad y adecuadas para su posterior análisis bioinformático.

5.2 Clasificación taxonómica

Los resultados obtenidos de la investigación metagenómica, representados por el gráfico de barras apiladas a nivel de género y la visualización de Krona, proporcionan una visión detallada de la composición bacteriana en la muestra de *Drosophila mesophragmatica*.

En el gráfico de barras a nivel de género, se observa una distribución diversa de géneros bacterianos. Entre los géneros más abundantes, Akkermansia, Morganella, Gluconobacter, Acinetobacter, Providencia y Escherichia destacan notablemente. Akkermansia es el género más representado con aproximadamente un 12% de las lecturas. Aunque no se ha encontrado literatura referente a la presencia de este género bacteriano en huéspedes similares, Akkermansia resulta en un organismo de gran interés científico debido a su potencial papel en la regulación del metabolismo y su asociación con enfermedades relacionadas (Montesino et al., 2021).

En segundo lugar, *Morganella* y *Gluconobacter*, cada uno con una representación cercana al 10%. *Acinetobacter*, *Providencia* y *Escherichia* tienen una presencia significativa, representando alrededor del 8% y 6% respectivamente. La presencia de bacterias del género *Providencia* y *Morganella* se corrobora con el estudio de Trasmonte et al. (2009) donde se registró la presencia de enterobacterias en otro tipo de moscas. Además, de que *Escherichia*, *Providencia* y *Klebsiella* se han registrado como bacterias presentes en la superficie de la mosca doméstica según Estrada et al. (2012) por lo que se determina estos géneros bacterianos como microbiota residente de la piel. Finalmente, una gran proporción de las lecturas no se asigna a ningún género específico ("unassigned at genus level"), lo cual representa un 15%. La categoría "tail" agrupa géneros que representan menos del 0.5% de las lecturas cada uno, indicando la presencia de una gran diversidad de géneros en menores cantidades.

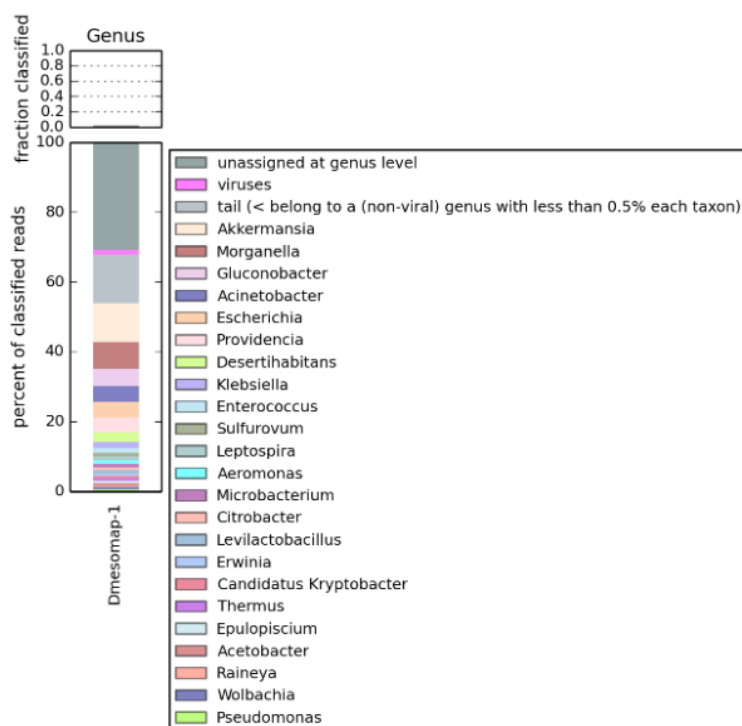


Figura 1. Gráfico de barras apiladas mostrando la distribución de géneros bacterianos en la muestra de *Drosophila mesophragmatica*. *Akkermansia* es el género más representado con un 12% de las lecturas, seguido por *Morganella* y *Gluconobacter* (10% cada uno), *Acinetobacter* (8%) y *Escherichia* (6%). Un 15% de las lecturas no se asignan a ningún género específico ("unassigned at genus level"), y la categoría "tail" agrupa géneros con menos del 0.5% de las lecturas.

La visualización de Krona complementa esta información, ofreciendo una representación jerárquica de la diversidad taxonómica. *Akkermansia muciniphila* se destaca como una de las especies más abundantes, representando el 12% del total de lecturas. El filo

Proteobacteria es notablemente abundante, con géneros importantes como *Acinetobacter*, que representa un 5%, *Klebsiella*, que constituye un 4% y *Acetobacter* con un 2%. Otros géneros notables incluyen *Morganella*, con una representación significativa de *Morganella psychrotolerans* (2%) y *Morganella morganii* (1%).

En cuanto al filo Firmicutes, se identifican varios géneros importantes como *Lactobacillus*, con un 4% lo que concuerda con el trabajo de Pais et al. (2018), en el que menciona que ciertas bacterias como *Acetobacter cibinongensis*, *Lactobacillus pseudomesenteroides* y *Acetobacter thailandicus* establecen una interacción específica con moscas del género *Drosophila* en el que se menciona que estas bacterias pueden ser estables o transitorias en el intestino de la mosca, y se plantea la posibilidad de que la composición de la microbiota intestinal pueda variar dependiendo de factores como la dieta y el ambiente.

De igual forma, Broderick y Lemaître (2012) mencionan que *Acetobacter*/*Gluconobacter* y *Lactobacillus* son comúnmente asociadas con la microbiota de *Drosophila*. Finalmente, la visualización de Krona también muestra una fracción considerable de lecturas no asignadas (18,489 lecturas), representando aproximadamente un 17% del total, indicando la presencia de secuencias que no corresponden a taxones bien caracterizados en las bases de datos de referencia actuales.

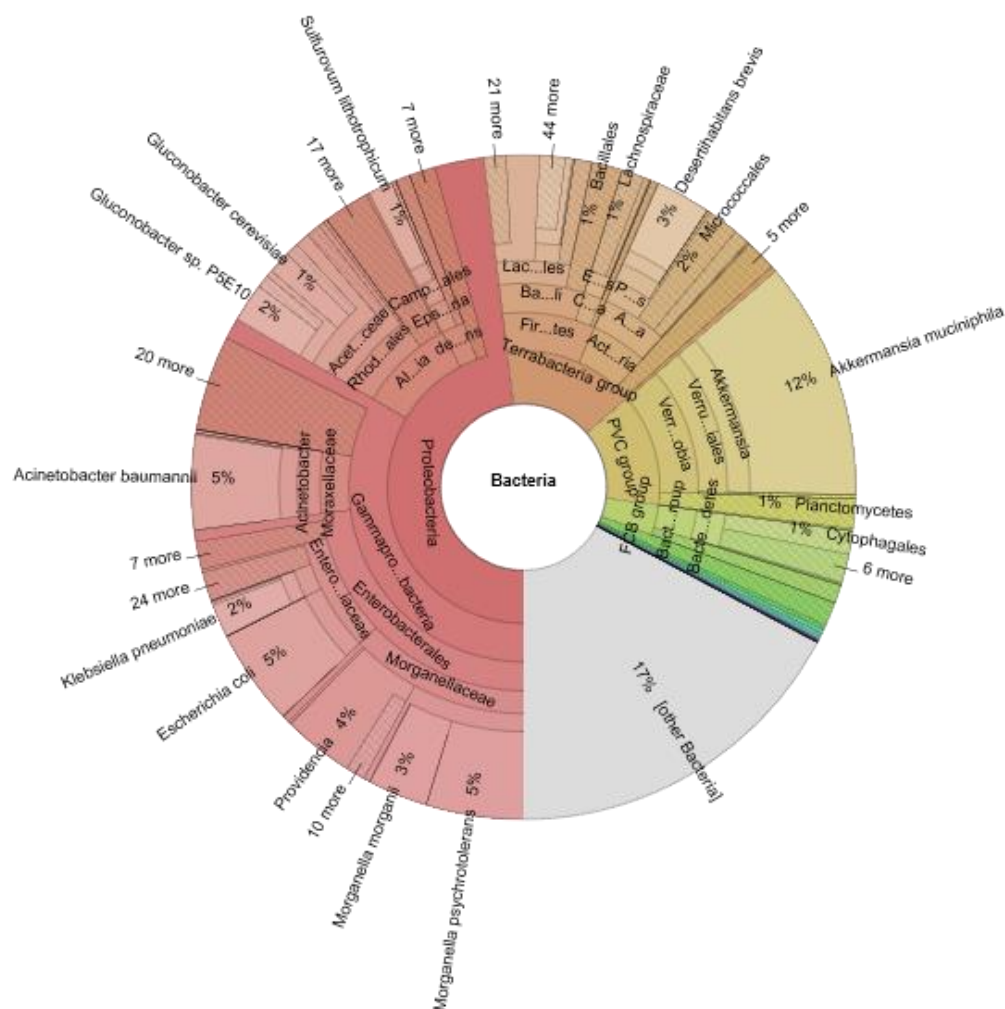


Figura 2. Visualización de Krona mostrando la diversidad taxonómica de la microbiota en la muestra de *Drosophila mesophragmatica*. *Akkermansia muciniphila* destaca con un 12% de las lecturas. El filo Proteobacteria es predominante, con géneros como *Acinetobacter* (5%) y *Klebsiella* (4%). Una fracción considerable de lecturas (17%) no se asigna a taxones específicos, indicando la presencia de secuencias no bien caracterizadas en las bases de datos de referencia actuales.

5.3 Identificación de rutas metabólicas

La imagen muestra un análisis de la completitud de los complejos de la cadena de transporte de electrones (ETC) en la secuencia. La barra de color en la parte superior de cada módulo indica el porcentaje de completitud de cada ruta o complejo, con una escala que varía desde blanco (0% completo) hasta azul (100% completo). El gráfico está dividido en varias categorías principales: genes metabólicos, Complejos I, II, III, IV y V. Los módulos en la primera parte del gráfico incluyen genes metabólicos con una alta completitud cercana al 100%.

El Complejo I, correspondiente a NADH: quinona oxidoreductasa, muestra una alta completitud en sus componentes. El Complejo II, compuesto por complejo succinato deshidrogenasa, también presenta una alta completitud. El Complejo III, que abarca el complejo citocromo b-c1, revela una alta completitud. En el Complejo IV, tanto los complejos de alta afinidad como los de baja afinidad muestran una alta completitud. Finalmente, el Complejo V, correspondiente a la ATPasa de tipo F, también muestra una alta completitud, a la cadena transportadora de electrones (ETC). En las bacterias desempeña un papel crucial en la producción de energía a través de la respiración celular. La cadena transportadora de electrones (ETC) es de vital importancia en las bacterias por varias razones. Primero, es esencial para la producción de ATP, la principal fuente de energía en las células. A través de la ETC, los electrones se transfieren entre los complejos proteicos y otros transportadores, generando un gradiente de protones a través de la membrana celular (Rodwell et al., 2009), Sin embargo, esto no tiene un impacto directo sobre el hospedador.

Además de los complejos de la ETC, la imagen muestra módulos correspondientes a otras rutas metabólicas importantes. Entre ellos se encuentran genes asociados con el ciclo de Krebs, la gluconeogénesis, la glucólisis, el ciclo del glioxilato, la fosforilación oxidativa y la vía pentosa fosfato. Estos procesos metabólicos son fundamentales para el funcionamiento celular y la producción de energía, lo que contribuye significativamente al metabolismo del hospedador. El ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa proporcionan ATP necesario para diversas actividades celulares (Alvia et al., 2018). La gluconeogénesis y la glucólisis regulan los niveles de glucosa en sangre, asegurando un suministro constante de energía, especialmente al cerebro y los glóbulos rojos (Rodwell et al., 2009). El ciclo del glioxilato permite la conversión de grasas en carbohidratos, crucial en condiciones de ayuno prolongado (Rodwell et al., 2009). La vía de las pentosas fosfato proporciona NADPH para la síntesis de lípidos y la defensa antioxidante, protegiendo al hospedador del daño oxidativo (Alvia et al., 2018). En conjunto, estos procesos aseguran el mantenimiento de la homeostasis energética y metabólica, apoyando el crecimiento, desarrollo y respuesta a condiciones de estrés del hospedador.

Adicionalmente, genes para la reducción y oxidación del nitrógeno, los cuales actúan para la nitrificación y desnitrificación y permiten a las bacterias convertir amoníaco en nitrito y nitrato, y luego reducir estos compuestos a gases nitrogenados, mejorando así la

disponibilidad de nitrógeno para el hospedador (Canosa et al., 2010). Además, rutas para la reducción del arsenato permiten a las bacterias detoxificar arsénico al reducir arsenato a arsenito, y potencialmente transformar arsenito en compuestos menos tóxicos. Esto protege al hospedador en entornos contaminados con arsénico, mejorando su salud y supervivencia (Rodwell et al., 2009). Finalmente, la reducción del acetato a metano ayuda a eliminar el exceso de hidrógeno, que puede acumularse durante la fermentación de carbohidratos y otros compuestos. Esto estabiliza el ambiente intestinal y mejora la eficiencia digestiva (Bonilla-Sandí et al., 2020).

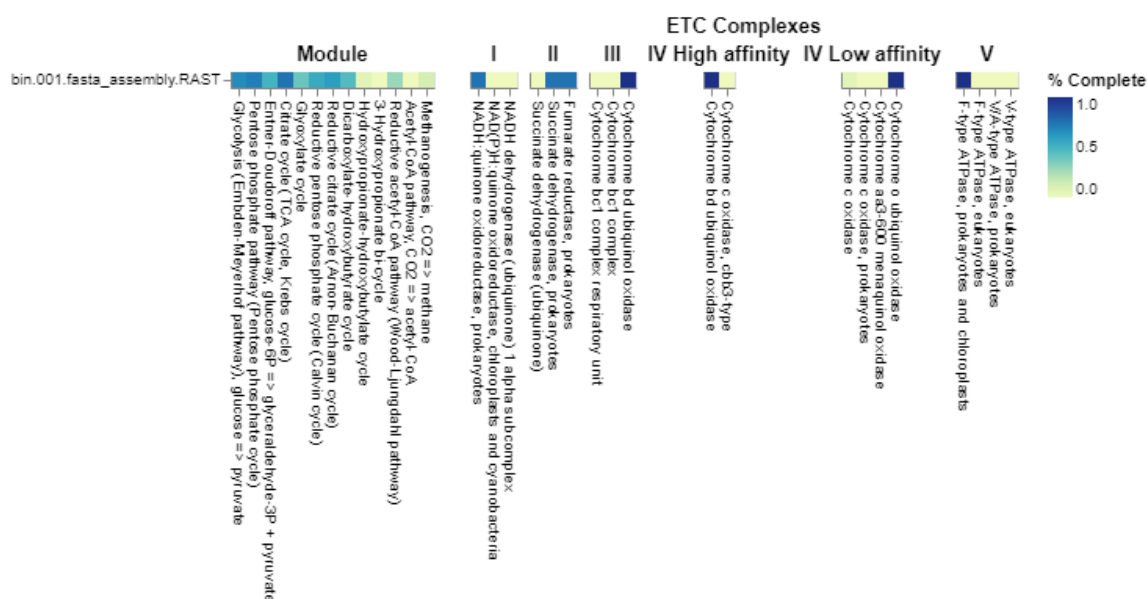


Figura 3. Análisis de las rutas metabólicas presentes en el genoma ensamblado de la microbiota simbiote de *Drosophila mesophragmatica*. En ella, se observan los complejos de la cadena de transporte de electrones (ETC), junto con otros módulos metabólicos como el ciclo de Krebs, la gluconeogénesis, la glucólisis, el ciclo del glioxilato, la fosforilación oxidativa y la vía pentosa fosfato.

6. CONCLUSIONES

Mediante el uso de análisis metagenómico para estudiar la composición de la microbiota de *Drosophila mesophragmatica*. Se emplearon técnicas de secuenciación de próxima generación (Illumina) para obtener datos de secuencias de ADN de la microbiota. Estos datos fueron procesados y analizados con herramientas bioinformáticas para identificar las especies bacterianas presentes y sus posibles funciones metabólicas. El análisis de los resultados proporcionó una visión detallada de la diversidad bacteriana y las rutas metabólicas que podrían contribuir a las relaciones simbióticas con el hospedador.

La diversidad y abundancia relativa de las bacterias presentes en *Drosophila mesophragmatica* se evaluaron utilizando herramientas de análisis metagenómico, como Krona y gráficos de barras de géneros bacterianos. Los resultados revelaron una comunidad bacteriana diversa con géneros predominantes como Akkermansia, Morganella, Gluconobacter, Acinetobacter, Providencia y Escherichia. Estos hallazgos permitieron una comprensión clara de la composición bacteriana y su distribución en términos de abundancia relativa, cumpliendo así el objetivo de evaluar la diversidad bacteriana en el hospedador.

Se encontraron genes relacionados con la reducción y oxidación del nitrógeno, la reducción del arsenato y la conversión del acetato a metano, así como rutas metabólicas específicas como la del ciclo del glioxilato, gluconeogénesis, glucólisis, fosforilación oxidativa y la vía de las pentosas fosfato. Estos análisis permitieron identificar las capacidades metabólicas de las bacterias presentes, proporcionando una base para entender sus roles funcionales dentro de *Drosophila mesophragmatica*.

Las relaciones simbióticas entre las bacterias identificadas y *Drosophila mesophragmatica* se determinaron mediante la interpretación de los resultados obtenidos del análisis metagenómico. Las bacterias con genes para la reducción y oxidación del nitrógeno, la detoxificación del arsenato y la metanogénesis pueden proporcionar beneficios significativos al hospedador, como mejorar la disponibilidad de nutrientes, proteger contra toxinas y estabilizar el ambiente intestinal. Estos beneficios potenciales sugieren una relación simbiótica en la que las bacterias contribuyen a la salud y nutrición del hospedador, cumpliendo así el objetivo de identificar y entender estas interacciones simbióticas.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvia, A. M., Astudillo, J. R. H., Holguín, D. M. C., Solórzano, F. A. V., Álava, M. M. S., Valdivieso, P. A. V., Alvia, M. J. M., Sornoza, J. W. S., Macías, M. J. E., Saltos, S. P. U., Espinoza, S. X. A., Macías, O. E. T., Reyes, J. M. P., Villamar, L. A. M., Cedeño, D. I. C., & Sánchez, K. J. I. (2018). *INTRODUCCIÓN AL ESTUDIO DE LA BIOQUÍMICA*. 3Ciencias.
- Ángel-Sánchez, A., & Galián, J. (2022). ESTUDIO DE LA MICROBIOTA DEL INSECTOTENEBRIO MOLITOR EN DIFERENTES CONDICIONES DE LUZ y CON DOS DIETAS BASADAS EN SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA. *Anales de veterinaria de Murcia*, 36. <https://doi.org/10.6018/analesvet.535101>
- Bonilla-Rosso, G., Souza, V., & Eguiarte, L. E. (2008). METAGENOMICA, GENOMICA Y ECOLOGIA MOLECULAR: LA NUEVA ECOLOGIA EN EL BICENTENARIO DE DARWIN. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 11(1), 41-51. <https://www.redalyc.org/pdf/432/43211943005.pdf>
- Bonilla-Sandí, D. J., Noboa-Jiménez, L., Portuguez-Molina, V., Quinto-Ureña, F., & Rojas-Gutiérrez, J. J. (2020). Metanogénesis microbiana en animales poligástricos. *Nutrición Animal Tropical*, 14(1), 36-49. <https://doi.org/10.15517/nat.v14i1.42578>
- Broderick, N. A., Buchon, N., & Lemaître, B. (2014). Microbiota-Induced changes in drosophila melanogaster host gene expression and gut morphology. *MBio*, 5(3). <https://doi.org/10.1128/mbio.01117-14>
- Broderick, N. A., & Lemaître, B. (2012). Gut-associated microbes of drosophila melanogaster. *Gut microbes*, 3(4), 307-321. <https://doi.org/10.4161/gmic.19896>
- Canosa, E. F., Magdalena, C. S. R., Conde, E. Y., Castiñeyra, I. B., & Jiménez, C. G. (2010). *Bioquímica, conceptos esenciales* (1.^a ed., p. 379). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=694583>

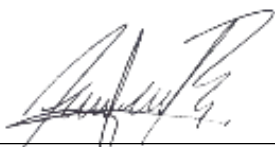
- Chivian, D., Jungbluth, S. P., Dehal, P. S., Wood-Charlson, E. M., Canon, R. S., Allen, B. H., Clark, M. M., Gu, T., Land, M. L., Price, G. A., Riehl, W. J., Sneddon, M. W., Sutormin, R., Zhang, Q., Cottingham, R. W., Henry, C. S., & Arkin, A. P. (2022). Metagenome-assembled genome extraction and analysis from microbiomes using KBase. *Nature Protocols*, 18(1), 208-238. <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00747->
- Cortés-López, N. G., Ordóñez-Baquera, P. L., & Domínguez-Viveros, J. (2020). Herramientas moleculares utilizadas para el análisis metagenómico. revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11(4), 1150-1173. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i4.5202>
- Estrada, S., Ceballos, M. T., Vanegas, C., Yepes, S., Estrada, M. S., & Roncancio, G. (2012). Bacterias identificadas en la superficie de *Musca domestica* y su potencial patogenicidad para el humano. *Hechos Microbiológicos/Hechos Microbiológicos*, 2(2), 55-62. <https://doi.org/10.17533/udea.hm.12650>
- Figüero Boza, M. L. (2017). *Filogenia molecular de especies ecuatorianas del grupo *Drosophila mesophragmatica* (Diptera, Drosophilidae)* [Tesis de maestría]. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Franco, D., & Ceriani, M. F. (2017). *Drosophila melanogaster*, un versátil organismo modelo. *Asociación Civil Ciencia Hoy*, 27(157), 13-17. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/68274>
- Garza-Velasco, R., Garza-Manero, S. P., & Perea-Mejía, L. M. (2021). Microbiota intestinal: aliada fundamental del organismo humano. Gut microbiota: our fundamental allied. *Educación Química*, 32(1), 10. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2021.1.75734>
- Guillín, E. R., & Rafael, V. (2017). Cinco especies nuevas del género *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) en la provincia de Napo, Ecuador. *Iheringia. Série Zoologia/Iheringia. Série Zoologia*, 107(0). <https://doi.org/10.1590/1678-4766e2017022>
- Iltis, C., Tougeron, K., Hance, T., Louapre, P., & Foray, V. (2022). A perspective on insect–microbe holobionts facing thermal fluctuations in a climate-change context. En *Environmental Microbiology* (1.^a ed., Vol. 24, pp. 18-29). <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15826>

- Jiménez Ocón, L. (2020). *Estudio comparativo de herramientas bioinformáticas para el análisis metagenómico sobre el microbioma humano* [Tesis de Maestría]. Universitat Oberta de Catalunya.
- Kayani, M. U. R., Doyle, S. M., Sangwan, N., Wang, G., Gilbert, J. A., Christner, B. C., & Zhu, T. (2018). Metagenomic analysis of basal ice from an Alaskan glacier. *Microbiome*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0505-5>
- Langille, M. G. I., Zaneveld, J., Caporaso, J. G., McDonald, D., Knights, D., Reyes, J. A., Clemente, J. C., Burkepille, D. E., Thurber, R. L. V., Knight, R., Beiko, R. G., & Huttenhower, C. (2013). Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nature Biotechnology*, 31(9), 814-821. <https://doi.org/10.1038/nbt.2676>
- Langmead, B., & Salzberg, S. L. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*, 9(4), 357-359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
- Menzel, P., Ng, K. L., & Krogh, A. (2016). Fast and sensitive taxonomic classification for metagenomics with Kaiju. *Nature Communications*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/ncomms11257>
- Montesino, C. A., Sánchez, A. A., Granados, M. A. D., Ponce, R. G., Flores, A. S., & García, O. C. R. (2021). Akkermansia muciniphila, an investigation window for the regulation of metabolism and related diseases. *Nutrición Hospitalaria*. <https://doi.org/10.20960/nh.03598>
- Munguía Casillas, A. I., Ruiz González, L. E., & Guerrero Galván, S. R. (2023). Héroe sin capa: los organismos modelo. *Revista de Divulgación Multidisciplinaria del Centro Universitario de la Costa*, 2(3). http://www.cuc.udg.mx/sites/default/files/adjuntos/lucidum_ciencia_her_oes_sin_capa.pdf
- Núñez, I., Gaudiano, E. G., & Barahona, A. (2003). La biodiversidad: historia y contexto de un concepto. *Interciencia*, 28(7), 387-393. <https://www.redalyc.org/pdf/339/33908204.pdf>

- Ortíz, O. L. O., Arango, S. M. R., & Devia, J. L. G. (2019). Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. *Nova*, *17*(31), 129-163. <https://doi.org/10.22490/24629448.3629>
- Pais, I. S., Valente, R. S., Sporniak, M., & Teixeira, L. (2018). *Drosophila melanogaster* establishes a species-specific mutualistic interaction with stable gut-colonizing bacteria. *PLOS Biology*, *16*(7), e2005710. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2005710>
- Pascual, I. P., Martínez, A. R., & de la fuente Moral, S. (2022). Interacciones entre microbiota y huésped. En *Medicina - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* (49.^a ed., Vol. 13, pp. 2843-2852). <https://doi.org/10.1016/j.med.2022.02.010>
- Patiño, L. A., & Morales, C. A. (2013). Microbiota de la piel: el ecosistema cutáneo. *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica/Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica*, *21*(2), 147-158. <https://doi.org/10.29176/2590843x.261>
- Rodwell, V. W., Bender, D., Botham, K. M., Kennelly, P. J., & Weil, P. A. (2009). *Bioquímica ilustrada de Harper* (28.^a ed.) [eBook]. McGraw Hill Brasil. https://drive.google.com/file/d/0B_VIunw7zgLlb3ctamtUZV10T2c/view?resourcekey=0-U_DLIF_1sQRL9bLAI9SQRw
- Santalla, M., Portiansky, E. L., & Ferrero, P. V. (2016). *Drosophila melanogaster*, un modelo animal emergente en el estudio de enfermedades cardíacas humanas. *Revista*
- Shaffer, M., Borton, M. A., McGivern, B. B., Zayed, A. A., La Rosa, S. L., Solden, L. M., Liu, P., Narrowe, A. B., Rodríguez-Ramos, J., Bolduc, B., Gazitúa, M. C., Daly, R. A., Smith, G. J., Vik, D. R., Pope, P. B., Sullivan, M. B., Roux, S., & Wrighton, K. C. (2020). DRAM for distilling microbial metabolism to automate the curation of microbiome function. *Nucleic Acids Research*, *48*(16), 8883-8900. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa621>

Argentina de Cardiología, 84(5).
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1850-37482016000500004

Ulloa Mojica, M. A. (2021). *Reconstrucción de Genomas Bacterianos Simbióticos de Drosophila Utilizando Datos Metagenómicos* [Trabajo de Grado]. Universidad de los Andes.



Firma de la estudiante

Diego Alejandro Rodríguez Vaca

Quito, 8 de julio del 2024



Firma del director/a de disertación

Doris Jimena Vela Peralta

Quito, 8 de julio del 2024

Firma de la coordinadora de carrera

Diana Astorga García

