

DESCRIPCIÓN DEL MICROBIOMA FECAL DE LAS AVES *COLUMBA LIVIA* Y *CORAGYPS ATRATUS* DE CALI, COLOMBIA

Miguel Á. Calderón

Universidad del Valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia

Correo electrónico: calderon.miguel@correounivalle.edu.co

Andrés Castillo

Universidad del Valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia

Correo electrónico: andres.castillo.g@correounivalle.edu.co

Diana López-Álvarez

Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira Apartado Aéreo 763533, Palmira, Colombia

Correo electrónico: dilopezal@unal.edu.co

RESUMEN

La microbiota gastrointestinal es una de las comunidades más importantes de un organismo y dados los múltiples factores que lo influyen y su posible efecto en la salud pública es clave comprender su composición y los patógenos que pueden estar presentes. Por esto, se determinó la composición del microbioma gastrointestinal de *C. livia* y *C. atratus* a partir de muestras fecales recolectadas en Cali, así como de secuencias de *C. livia* de Países Bajos y China, *C. atratus* de Estados Unidos y *G. fulvus* de Emiratos Árabes. Se identificaron 943 ASVs en las muestras de Cali y 2415 ASVs en todas las muestras. Para Cali, los phyla más abundantes fueron Proteobacteria (57%) y Firmicutes (42%). En general, para *C. livia* las familias más abundantes fueron Enterobacteriaceae (51,6%), Enterococcaceae (14,9%) y Clostridiaceae (6,3%), mientras que para *C. atratus* y *G. fulvus* fueron Fusobacteriaceae (4,2%), Micrococcaeae (4,1%), Peptostreptococcaceae (11,7%) y Moraxellaceae (3,1%). En las muestras de Cali se detectó la presencia de microorganismos con potencial patogénico pertenecientes a los géneros *Streptococcus*, *Campylobacter*, *Chlamydia* y *Atopobium* en *C. livia* y *Clostridium*, *Klebsiella*, *Helicobacter* y *Fusobacterium* en *C. atratus*. Las muestras de *C. livia* y *C. atratus* de Cali difirieron parcialmente en su composición con las muestras de los demás países, posiblemente por la ubicación geográfica, dieta u otros factores. Existen diferencias en la composición taxonómica de especies que comparten una ubicación, pero también entre organismos de una misma especie o nicho que habitan lugares distintos.

Palabras clave: bacteria, ARNr 16S, patógeno, diversidad microbiana, paloma, buitre, gallinazo.

ABSTRACT

The gastrointestinal microbiota is one of the most important communities of an organism and given the multiple factors that influence it and its possible effect on public health, it is essential to understand its composition and the pathogens that may be present. For this reason, the composition of the gastrointestinal microbiome of *C. livia* and *C. atratus* was determined from fecal samples collected in Cali, as well as from sequences of *C. livia* from the Netherlands and China, *C. atratus* from the United States, and *G. fulvus* from United Arab Emirates. 943 ASVs were identified in the Cali samples and 2415 ASVs in all samples. For Cali, the most abundant phyla were Proteobacteria (57%) and Firmicutes (42%). In general, for *C. livia* the most abundant families were Enterobacteriaceae (51.6%), Enterococcaceae (14.9%) and Clostridiaceae (6.3%), while for *C. atratus* and *G. fulvus* they were Fusobacteriaceae (4.2%), Micrococcaeae (4.1%), Peptostreptococcaceae (11.7%) and Moraxellaceae (3.1%). In the samples from Cali, the presence of microorganisms with pathogenic potential belonging to the genera *Streptococcus*, *Campylobacter*, *Chlamydia* and *Atopobium* was detected in *C. livia* and *Clostridium*, *Klebsiella*, *Helicobacter* and *Fusobacterium* in *C. atratus*. Samples of *C. livia* and *C. atratus* from Cali partially differed in composition from samples from other countries, possibly due to geographic location, diet, or other factors. There are differences in the taxonomic composition of species that share a location, but also between organisms of the same species or niche that inhabit different places.

Keywords: bacteria, 16S rRNA, pathogen, microbial diversity, pigeon, vulture.

INTRODUCCIÓN

El tracto gastrointestinal de los animales está habitado por millones de microorganismos, lo que lo hace una de las comunidades bacterianas más grandes en los animales, que experimenta procesos de coevolución con su hospedero y puede afectar su salud e incrementar parámetros de fitness (Rosenberg and Zilber-Rosenberg, 2013). En especial, el grupo taxonómico aves está conformado por individuos con características de vida contrastantes como comportamiento migratorio, capacidad de vuelo, dieta, sistemas de apareamiento, longevidad y fisiología que pueden influir en la composición del microbioma gastrointestinal del individuo. Los estudios sobre composición del microbioma de aves y su influencia en el organismo son temas de investigación que en los últimos años se han visto reforzados por los métodos de secuenciación masiva de las técnicas moleculares (Sun *et al.*, 2022). Dado que la composición del microbioma puede ser afectada por variables como la taxonomía, la dieta, la edad o el comportamiento y la variedad de especies y nichos que pueden ocupar las aves, este grupo puede estar asociado a una mayor diversidad de microorganismos gastrointestinales en comparación con otros grupos de animales (Grond *et al.*, 2018). Sin embargo, la información disponible sobre la composición del microbioma intestinal en aves en comparación con la de otros vertebrados como los mamíferos es muy inferior y se ha centrado principalmente en aves de interés comercial o al aislamiento de patógenos específicos (Waite and Taylor, 2015; Grond *et al.*, 2018).

A pesar de que las aves son indicadores de la salud de un ecosistema, son también potenciales portadores de microorganismos y patógenos presentes en su tracto gastrointestinal, que pueden afectar su salud y además puedan ser transmisibles por su materia fecal a mamíferos como los humanos, por lo que ha recibido un gran interés la determinación de su rol epidemiológico (Ebani

et al., 2021). La especie *Columba livia* (paloma doméstica), es un ave columbiforme que en las ciudades se encuentra en congregaciones de numerosos individuos que vuelan y perchan juntos en contacto estrecho con los humanos, lo que además la hace un posible transmisor de microorganismos patógenos (Spennemann and Watson, 2017; Mia, Hasan and Hasnath, 2022). Por otro lado, *Coragyps atratus* (gallinazo o buitre negro) pertenece a los buitres del nuevo mundo y son carroñeros obligados continuamente expuestos a los microorganismos presentes en tejidos en descomposición o basuras (Plaza, Blanco and Lambertucci, 2020). En los últimos años han aumentado el número de estudios que buscan determinar la composición del microbioma gastrointestinal en estas aves, el nivel de influencia de factores intrínsecos y extrínsecos en esta composición y su importancia (Roggenbuck *et al.*, 2014; Hird *et al.*, 2015; Grond *et al.*, 2018; Zepeda Mendoza *et al.*, 2018; Bodawatta *et al.*, 2022). Estos estudios se han realizado principalmente por amplificación y secuenciación de la región del gen ARNr 16S en muestras fecales, de piel y tracto gastrointestinal (Sun *et al.*, 2022).

Colombia es uno de los países con mayor riqueza de aves en el mundo (Vélez *et al.*, 2021). Sin embargo, solo se encontró un estudio sobre composición del microbioma en *Zonotrichia capensis* en Cundinamarca y no existe información para palomas y gallinazos en el país. En Cali, *C. livia* se encuentra distribuida por toda la ciudad, principalmente en plazas y parques. Asimismo, *C. atratus* se encuentra generalmente asociado a vertederos de basuras. Ambas especies de aves son de interés para la salud pública por su cercanía con los humanos, los patógenos a los que se encuentran expuestas y a que no existe información sobre la composición de sus comunidades bacterianas gastrointestinales en la ciudad de Cali. Conocer la composición bacteriana de estas especies permitirá aumentar a nivel global la información disponible sobre el microbioma gastrointestinal en aves y generar para Cali una línea base para el establecimiento y comprensión

de las comunidades bacterianas asociadas a sus aves. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue describir y comparar el microbioma fecal de las especies de aves *C. livia* y *C. atratus* de la ciudad de Cali y otros países, identificando los microorganismos potencialmente patógenos que podrían transmitir estas aves a través de su materia fecal en la ciudad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de muestras

Entre abril y junio de 2021, se recolectaron tres muestras fecales de *C. livia* y *C. atratus*, en Cali (Fig. S1). Dos muestras de *C. livia* se recolectaron en plazas públicas (COLP3, COLP1) y otra en una zona residencial aledaña a una plaza de mercado (COLP2). Las muestras de *C. atratus* se recolectaron en un caño con residuos de basuras y materia orgánica (COLG2), una en zona rural de la ciudad (COLG1) y un vertedero de basuras de una plaza de mercado (COLG3). Todas las muestras se recolectaron inmediatamente después de la deposición y se mantuvieron a -80 °C hasta el momento de la extracción. Adicionalmente, se descargaron del European Nucleotide Archive (ENA) siete muestras de *C. livia*: tres de China (CHI1-3) y cuatro de Países Bajos (HOL1-4), seis de *Coragyps atratus* (Estados Unidos, USA1-6) y tres de *Gyps fulvus* (Emiratos Árabes Unidos, EAU1-3) (Fig. S1, Tabla 1). El muestreo contó con el aval del Comité de Ética en Investigación para la Fauna y Flora de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad del Valle “ACTA DE CONCEPTO A PROYECTO DE INVESTIGACIÓN N° 10” del 28 de octubre de 2021.

Extracción de ADN y secuenciación de la región ARNr 16S

La extracción del ADN se realizó empleando el kit DNeasy PowerSoil kit (Qiagen, Hilden, Alemania) siguiendo el protocolo suministrado por el fabricante. La calidad del ADN se evaluó

con espectrofotómetro Nanodrop 2000 (Termo Fisher Scientific). Las muestras fueron secuenciadas para la región hipervariable V3-V4 del gen ARNr 16S mediante Illumina Hiseq 6000 para obtener lecturas pareadas de 301 pb.

Análisis bioinformático

Los análisis taxonómicos se realizaron empleando el programa QIIME2 versión 2021.11 (Bolyen *et al.*, 2019). El control de calidad de las lecturas se realizó con el plugin DADA2 con corte a las 250 bases y eliminación de las secuencias quiméricas. Estas secuencias se alinearon para asignación en ASVs (Amplicon Sequence Variant, que distingue variaciones en las secuencias hasta en un nucleótido) con la base de datos SILVA 138-99-nb (Quast *et al.*, 2013). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa R v4.1.2 con los paquetes tidyverse v1.3.1 (Wickham *et al.*, 2019), devtools v2.4.3 (Wickham, Hester and Chang, 2021), qiime2R v0.99.6 (Bisanz, 2018), phyloseq v1.38.0 (McMurdie and Holmes, 2013), microbiome v1.16.0 (Leo and Sudarshan, 2017), microbiomeutilities v1.00.16 (Shetty *et al.*, 2018) y DESeq2 v1.34.0 (Love, Huber and Anders, 2014). Las gráficas de abundancia se realizaron con ggplot2 (Wickham, 2016) y los diagramas de Venn con el plugin jvenn (Bardou *et al.*, 2014). Además, se realizaron análisis de coordenadas principales (PCoA) para visualizar las similitudes y diferencias entre los datos y se calcularon índices de diversidad para los tratamientos por especie y ubicación, riqueza (ASVs observados), diversidad (Shannon) y dominancia (Simpson) con el paquete phyloseq en R. Las especies potencialmente patogénicas y zoonóticas se identificaron a partir de las secuencias asociadas a ASVs con el Nucleotide BLAST del NCBI y su caracterización como potencialmente patogénica para el humano según información disponible en la literatura (Szyfres and Acha, 1986) y las bases de datos del National Institutes of Health (NIH). Por último, PICRUST2 se utilizó para predecir el potencial funcional de la microbiota basada en el gen del ARNr 16S a partir de datos

bibliográficos de los taxones encontrados. Las funciones predichas (KO) se colapsaron en vías jerárquicas de MetaCycPath utilizando la función completa `picrust2_pipeline.py` de la línea de comandos (Douglas *et al.*, 2020).

RESULTADOS

Análisis de composición bacteriana

Para las muestras de Cali se secuenciaron 949,156 lecturas Illumina. En promedio se obtuvieron $158,192.66 \pm 22,540.01$ (min: 137,437; max: 173,624) por muestra. Después del control de calidad, se conservaron en promedio $76,565 \pm 13,051.31$ (min: 50,767; max: 120,686) lecturas. En total se obtuvieron 1,754,337 lecturas Illumina, con un promedio de $79,742.6 \pm 86,250.5$ (min: 1,666; max: 314,514). Después del control de calidad, se conservaron en total para las muestras de Cali 459,390 lecturas con un promedio de $76,565 \pm 13,051.31$ (min: 50,767; max: 120,686) lecturas y 467,449 lecturas con un promedio de $29,215.5 \pm 40,986.9$ (min: 847; max: 151,446) para las secuencias extranjeras. Para Cali se obtuvieron 943 ASVs y en total 2415 ASVs correspondientes al dominio Bacteria (Tabla 2, Fig. S2).

Las lecturas correspondientes a Cali se asignaron taxonómicamente a 19 phyla (99,8%), 45 clases (99,77%), 109 órdenes (99,2%), 159 familias (98,4%), 196 géneros (96,3%) y 21 especies (12,9%). Para *C. livia*, los phyla Proteobacteria (83,1%) y Firmicutes (16,2%) fueron los más abundantes (Fig. 1A). En *C. atratus*, Firmicutes (76,9%), Proteobacteria (9,6%), Fusobacteria (7,6%) y Campilobacterota (3,8%) fueron los más abundantes (Fig. 2A). En las muestras de *C. livia* de China se encontraron 4 phyla: Proteobacteria (64%), Firmicutes (35,8%), Actinobacteriota (0,05 %) y Patescibacteria (0,004 %). En las secuencias de *C. livia* de Países Bajos los phyla más abundantes fueron Firmicutes (40,2%), Actinobacteriota (33,5%), Proteobacteria (16,7%) y

Fusobacteriota (7,3%) (Fig. 1A). Para las muestras de *C. atratus* de Estados Unidos, los phyla más abundantes fueron Firmicutes (32,2%), Proteobacteria (22,7%), Actinobacteriota (20,7%), Chloroflexi (8,2%) y Bacteroidota (8,1%). Para *G. fulvus* los phyla más abundantes fueron Firmicutes (70,9%), Proteobacteria (21,4%), Fusobacteriota (4,3%) y Actinobacteriota (2,6%) (Fig. 2A).

Las muestras de *C. livia* y *C. atratus* de Cali compartieron diez phyla (Fig. S2). Para *C. atratus* se encontraron nueve phyla exclusivos: Fusobacteriota, Campilobacterota, Myxococcota, Verrucomicrobiota, Deferribacterota, Gemmatimonadota, Bdellobrionota, Sumerlaeota y Abditibacteriota (Fig. S2A). Las tres agrupaciones por país para palomas compartieron tres phylum: Actinobacteriota, Firmicutes y Proteobacteria (Fig. S2B). Asimismo, todas las muestras de buitres compartieron 11 phyla: Cyanobacteria, Patescibacteria, Chloroflexi, Deinococcota, Planctomycetota, Bacteroidota, Actinobacteriota, Campilobacterota, Fusobacteriota, Proteobacteria y Firmicutes (Fig. S2C).

A nivel de clase, las más abundantes en Cali para las muestras de *C. livia* fueron Gammaproteobacteria (83%), Bacilli (14,7%) y Clostridia (1,5%) (Fig. 1B). Para *C. atratus*, las clases más abundantes fueron Clostridia (55%), Bacilli (21,8%), Gammaproteobacteria (8,8%), Fusobacteria (7,6%) y Campylobacteria (3,8%) (Fig. 2B). Para las secuencias de palomas de Países Bajos las clases más abundantes fueron Actinobacteria (32,9%), Clostridia (22,4%), Gammaproteobacteria (16,4%), y Bacilli (13,2%). En las secuencias de palomas de China Gammaproteobacteria (64,1%), Bacilli (29,8%) y Clostridia (5,93%) fueron las más abundantes (Fig. 1B). Para las muestras de *C. atratus* de Estados Unidos, las clases más abundantes fueron Gammaproteobacteria (20,1%), Actinobacteria (20,1%), Clostridia (16,7%), Bacilli (13,7%) y Bacteroidia (8,1%). Para *G. fulvus* las clases más abundantes fueron Clostridia (63,8%),

Gammaproteobacteria (18,6%), Fusobacteriia (4,3%), Negativicutes (4,1%) y Bacilli (3%) (Fig. 2B).

Las muestras de *C. livia* y *C. atratus* de Cali compartieron 17 clases. En las muestras de *C. atratus* se encontraron 27 clases exclusivas (Fig. S2D). Todos los grupos de *C. livia* compartieron las clases Gammaproteobacteria, Bacilli, Clostridia, Actinobacteria y Negativicutes (Fig. S2E). Asimismo, todas las muestras de buitres compartieron 16 clases (Fig. S2F).

A nivel de Orden para las muestras de Cali, los más abundantes para *C. livia* fueron Enterobacterales (80,4%), Lactobacillales (13,2%) y Pseudomonadales (2,5%) (Fig. 1C). Para *C. atratus* los órdenes más abundantes fueron Lachnospirales (44,5%), Lactobacillales (19,6%), Fusobacteriales (7,6%), Enterobacterales (7,4%) y Clostridiales (6,1%) (Fig. 2C). Para las secuencias de *C. livia* de Países Bajos los órdenes más abundantes fueron Corynebacteriales (13,5%), Enterobacterales (12,8%), Clostridiales (12,3%), Actinomycetales (9,2%) y Lactobacillales (8,6%). En las secuencias de palomas de China los principales órdenes fueron Enterobacterales (64,1%), Lactobacillales (29,1%) y Clostridiales (5,9%) (Fig. 1C). Para las muestras de *C. atratus* de Estados Unidos los órdenes más abundantes fueron Micrococcales (16%), Pseudomonadales (12,6%), Bacillales (9,9%), Clostridiales (8,3%) y Thermomicrobiales (7,8%). Para *G. fulvus*, los órdenes más abundantes fueron Peptostreptococcales-Tissierellales (30,1%), Clostridiales (28,2%), Pseudomonadales (13,1%), Lachnospirales (5,3%) y Fusobacteriales (4,3%) (Fig. 2C).

Las muestras de *C. livia* y *C. atratus* de Cali compartieron 42 órdenes. En las muestras de *C. atratus* de Cali se encontraron 60 órdenes exclusivos, mientras que en las de *C. livia* siete (Fig.

S2G). Todas las muestras de *C. livia* compartieron 14 órdenes (Fig. S2H). Para las muestras de buitres se encontró que todos compartieron 38 órdenes (Fig. S2I).

A nivel de Familia para las muestras de Cali, las más abundantes en el caso de *C. livia* fueron Enterobacteriaceae (78,5%), Enterococcaceae (13,3%) y Clostridiaceae (1%) (Fig. 1D). Para *C. atratus*, las familias más abundantes fueron Lachnospiraceae (41,2%), Enterococcaceae (13,3%), Fusobacteriaceae (7,6%), Enterobacteraceae (7,2%) y Clostridiaceae (6,1%) (Fig. 2D). Para las secuencias de *C. livia* de Países Bajos, las familias más abundantes fueron Corynebacteriaceae (13,1%), Enterobacteriaceae (63,5%), Clostridiaceae (12,3%), Actinomycetaceae (9,2%) e Intrasporangiaceae (8,1%). En las secuencias de palomas de China las principales familias fueron Enterobacteriaceae (64,1%), Enterococcaceae (28,8%) y Clostridiaceae (5,9%) (Fig. 1D). Para las muestras de *C. atratus* de Estados Unidos las familias más abundantes fueron Micrococcaceae (11,9%), Clostridiaceae (8,3%), Planococcaceae (8,2%) y Moraxellaceae (7,9%). Para *G. fulvus* las familias más abundantes fueron Peptostreptococcaceae (29%), Clostridiaceae (28,2%), Pseudomonadaceae (11,8%), Lachnospiraceae (5,3%) y Fusobacteriaceae (4,3%) (Fig. 2D). A partir de las lecturas normalizadas y el promedio global para cada familia se encontró que para *C. livia* en los tres países se compartieron las familias Enterobacteriaceae ($51,6 \% \pm 5,1 \%$), Enterococcaceae ($14,9 \% \pm 12,1\%$) y Clostridiaceae ($6,3 \% \pm 12,3 \%$). En promedio, el total de lecturas normalizadas asignadas a otros ASVs correspondió al $27,3 \% \pm 13,8 \%$. Asimismo, en los tres tratamientos por país y especie para *C. atratus* y *G. fulvus* se encontraron las familias Fusobacteriaceae ($4,2\% \pm 5,6\%$), Micrococcaceae ($4,1 \% \pm 6,5 \%$), Peptostreptococcaceae ($11,7 \% \pm 2,6 \%$) y Moraxellaceae ($3,1 \% \pm 1,2\%$). Adicionalmente, el promedio de lecturas normalizadas asignadas a otros ASVs correspondió al $76,9 \% \pm 6,3 \%$ (Fig. 3A).

Las muestras de *C. livia* y *C. atratus* de Cali compartieron 50 familias. En las muestras de *C. atratus* de Cali se encontraron 98 familias exclusivas, mientras que en *C. livia* 11 (Fig. S2J). Todas las muestras de *C. livia* compartieron 14 familias, mientras que para las muestras de Cali 25 fueron exclusivas (Fig. S2K). Todas las muestras de buitres compartieron 46 familias, mientras que para las muestras de Cali 50 fueron exclusivas (Fig. S2L).

A nivel de Género para las muestras de Cali, los más abundantes en el caso de *C. livia* fueron *Escherichia-Shigella* (80,4%), *Enterococcus* (11,5%), *Psychrobacter* (2,5%), *Clostridium sensu stricto 1* (1%) y *Lactobacillus* (0,7%). Para *C. atratus* los géneros más abundantes fueron *Tyzzera* (24,6%), *Epulopiscium* (19%), *Enterococcus* (17,2%), *Fusobacterium* (7,6%) y *Escherichia-Shigella* (5,5%). Para las secuencias de *C. livia* de Países Bajos los géneros más abundantes fueron *Corynebacterium* (13,1%), *Escherichia-Shigella* (12,6%), *Candidatus Arthromitus* (11%) y *Streptobacillus* (6,9%). En las secuencias de palomas de China los principales géneros fueron *Escherichia-Shigella* (64,1%), *Enterococcus* (28,8%), *Candidatus Arthromitus* (3,6%), *Clostridium sensu stricto 1* (2,1%) y *Turicibacter* (0,7%). Para las muestras de *C. atratus* de Estados Unidos los géneros más abundantes fueron *JG30-KF-CM45* (7,8%), *Herbaspirillum* (3,7%), *Glutamicibacter* (3,4%), *Arcobacter* (3,4%) y *Chryseobacterium* (3,3%). Para *G. fulvus* los órdenes más abundantes fueron *Clostridium sensu stricto 1* (26,7%), *Paeniclostridium* (26%), *Pseudomonas* (11,9%), *Fusobacterium* (4,3%) y *Megamonas* (3,8%).

Las muestras de *C. atratus* y *C. livia* de Cali compartieron 40 géneros. En las muestras de *C. atratus* de Cali se encontraron 138 géneros exclusivos, mientras que en las de *C. livia* 22. Todas las muestras de *C. livia* compartieron 11 géneros, mientras que para las muestras de Cali 37 fueron exclusivos. Para las muestras de buitres se encontró que todos compartieron 34 géneros, mientras que para las muestras de Cali 87 fueron exclusivos.

Análisis de diversidad bacteriana, rutas metabólicas y microorganismos patógenos

Se estimaron índices ecológicos de diversidad para describir la composición de la comunidad de las muestras de Cali. Las muestras de *C. livia* tuvieron bajos índices de diversidad alfa (riqueza observada; índice de Shannon; índice de Simpson), siendo COLP3 (129; 2,58; 0,89) de la plaza de San Francisco la que obtuvo la mayor riqueza, seguida de COLP1 (95; 2,08; 0,81) del Centro Administrativo Municipal y por último COLP2 (84; 2,36; 0,85) de Santa Elena (Fig 4A). Por otro lado, las muestras de *C. atratus* tuvieron índices de diversidad superiores a los de *C. livia*: COLG1 (170; 2,90; 0,84), COLG2 (200; 2,97; 0,91) y COLG3 (363; 2,83; 0,88) tomadas en las zonas de La Reforma, Petecuy y Santa Elena, respectivamente (Fig. 4B). No se presentaron diferencias significativas en los índices de diversidad alfa entre las muestras de *C. livia* y *C. atratus* (Tabla 3).

Para los análisis de diversidad beta, el diagrama PCoA empleando el índice de Bray-Curtis evidenció una separación de las muestras a partir de la composición de las comunidades bacterianas de cada especie. El primer eje registró el 17,2 % de la varianza en la composición y separó las muestras de Estados Unidos de los demás países. El segundo eje registró el 12,7 % de la varianza y las muestras de *C. livia* y *C. atratus* de Colombia se separaron entre sí. Adicionalmente, dos muestras de *C. atratus* se observan más cercanas a las muestras de Holanda, China y Emiratos Árabes (Fig. 5A). La abundancia relativa de la composición de las comunidades bacterianas difirió entre las especies. El análisis DESeq2 reveló que, para las muestras de Cali, *Campylobacter* y *Catelliboccus* tuvieron abundancias significativamente mayores en *C. atratus* que en *C. livia* (Fig. 5B). Las muestras de *C. livia* de Colombia tuvieron una abundancia significativamente mayor de cuatro géneros que las muestras de China y Holanda. Las muestras de *C. atratus* presentaron seis géneros significativamente más abundantes que las muestras de Estados Unidos y de Emiratos Árabes.

Las rutas metabólicas microbianas se estimaron basadas en el gen ARNr 16S con el software PICRUSt y las comparaciones entre las muestras de *C. livia* y *C. atratus* de Cali se realizaron en el software STAMP. Los análisis de predicción funcional mostraron que en el caso de *C. livia* las bacterias se encuentran ampliamente asociadas a rutas de glucólisis por Entner-Doudoroff, fermentación, oxidación de ácidos grasos, degradación de carboxilato, degradación de la glucosa y biosíntesis de ácidos grasos. Estas rutas están asociadas, entre otras, a *E. coli*. Otras rutas abundantes asociadas a especialmente a *C. atratus*, fueron biosíntesis de fosfolípidos, biosíntesis de ácidos grasos, biosíntesis de aminoácidos, biosíntesis de nucleótidos, glucólisis anaeróbica, biosíntesis de vitaminas, degradación de nucleótidos, síntesis de glucógeno, entre otros.

La búsqueda de microorganismos potencialmente patógenos para los humanos en las muestras arrojó como resultado la presencia en *C. livia* de *Streptococcus lutetiensis*, *Campylobacter concisus*, *Chlamydia psittaci*, *Campylobacter lari* y *Atopobium vaginae*. Asimismo, las especies encontradas en *C. atratus* fueron *Clostridium calaveris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Helicobacter canadensis*, *Fusobacterium mortiferum*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, *Chlamydia psittaci* y *Clostridium novyi*.

DISCUSIÓN

En las muestras de Cali se encontraron 19 phyla correspondientes al dominio Bacteria. Para *C. livia*, los phyla más abundantes fueron Proteobacteria y Firmicutes con un 99,28% de las lecturas, mientras que para *C. atratus* los phyla más abundantes fueron Firmicutes, Proteobacteria, Fusobacteria y Campilobacterota, que representaron el 97,9% de las lecturas. Para Colombia no existe información sobre el microbioma gastrointestinal en estas aves. Otros estudios realizados en *Z. capensis* en Colombia, aves neotropicales de Costa Rica y Perú y aves neotropicales

Columbiformes y Passeriformes de Venezuela encontraron entre los phyla más abundantes Proteobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes en abundancias promedio similares a las aquí reportadas (Hird *et al.*, 2015; García-Amado *et al.*, 2018; Escallón, Belden and Moore, 2019). Estos resultados son similares a los obtenidos en otros estudios, en los que para *C. livia* los phyla más abundantes son Firmicutes y Actinobacteria, y para *C. atratus*, Clostridia y Fusobacteria (Roggenbuck *et al.*, 2014; Dietz *et al.*, 2022). Firmicutes es un phylum comúnmente encontrado en los tractos gastrointestinales de aves salvajes, al igual que Proteobacteria y son los phyla a los que corresponden la mayoría de secuencias potencialmente patogénicas que se encontraron en las muestras (Bodawatta *et al.*, 2022). Adicionalmente, los resultados concuerdan con los reportados por Hird y colaboradores (2015), con un enriquecimiento de Proteobacteria y un déficit de Actinobacteria en comparación con los datos reportados por Waite y Taylor (2014), que pueden deberse a los factores intrínsecos y extrínsecos de las aves o condiciones de muestreo.

Para todas las muestras analizadas en el PCoA se observa una tendencia de influencia de la taxonomía y la geografía, cuyos ejes explican un 29,9% de la varianza. Se ha determinado que la taxonomía es el factor más determinante en la composición del microbioma, de forma que las aves pertenecientes a la misma especie, género o familia tendrán microbiomas similares (Ley *et al.*, 2008; Dewar *et al.*, 2013; Hird *et al.*, 2015). Esto concuerda con los resultados de Hird y colaboradores (2015), en el que para la muestra de ave de la familia Columbidae los phyla más abundantes fueron Firmicutes y Proteobacteria y con los diagramas de Venn (**Figura S2**), en los que todas las muestras de *C. livia* comparten 14 familias, y para las muestras de *C. atratus* de Colombia que comparten un mayor número de familias con las de Estados Unidos (84) en comparación con las muestras de *G. fulvus* (58). Una posible explicación a por qué las muestras de *C. livia* y *C. atratus* de Cali comparten un considerable número de familias (50), es el

comportamiento y nicho ecológico de los gallinazos, que puede asociarlos a un espectro más amplio de fuentes de alimentación y los expone a una gran cantidad de microorganismos en común con *C. livia*. Lo anterior sería concordante con la evidencia de que otros factores como la ecología del hospedero, su dieta y fuente de alimentación son factores igualmente relevantes (Hird *et al.*, 2015; Youngblut *et al.*, 2018). Sin embargo, el nivel de influencia de la geografía no está muy bien determinado dado que en algunos estudios han determinado que su efecto es muy bajo (Hird *et al.*, 2015), pero en otros se ha visto que la ubicación sí está relacionada significativamente con la microbiota gastrointestinal (Hird *et al.*, 2014). Adicionalmente, dado que la dieta es un factor con una gran influencia, los cambios geográficos podrían implicar también cambios en la dieta y microorganismos asociados a esta, por lo que muestras de una misma especie, pero de distintas ubicaciones geográficas tendrían diferencias en la composición de su microbioma (Davidson *et al.*, 2020).

De acuerdo con un estudio realizado en mamíferos por Ley y colaboradores (2009), el tipo de dieta tiene una estrecha relación con el microbioma de los individuos. Estudios realizados en aves rapaces y hienas evidencian una alta abundancia de microorganismos de los phylum Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes y Fusobacteria (Heitlinger *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2020). Otro estudio realizado en animales carnívoros y herbívoros determinó que los carnívoros tienen una mayor presencia de los phyla/familias Fusobacteria/Fusobacteriaceae, Firmicutes/Clostridiaceae, Firmicutes/Lachnospiraceae y Bacteroidetes/Bacteroidaceae y que el microbioma en carnívoros es altamente variable e inconsistente en y entre especies (Zoelzer, Burger and Dierkes, 2021). Otro estudio realizado en osos omnívoros encontró en estos una mayor abundancia de los phyla Firmicutes y Proteobacteria y el género *Escherichia-Shigella* (Trujillo *et al.*, 2022). La presencia de los géneros *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Escherichia* y *Streptococcus* se

ha documentado frecuentemente en aves como microorganismos con roles en la degradación de polisacáridos y la síntesis de moléculas como cadenas cortas de ácidos grasos y aminoácidos (Bodawatta *et al.*, 2022). Esta información concuerda con los resultados obtenidos para las muestras de Cali *C. livia* y *C. atratus* con dietas omnívora y carnívora, respectivamente. Cabe resaltar que entre los phyla obtenidos en diferentes estudios se destaca en abundancia Actinobacteria, que no tuvo una abundancia importante en las muestras de Cali.

Otros factores importantes que influyen en la composición del microbioma de las aves son su comportamiento y fuentes de alimentación (Grond *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2022). En una investigación desarrollada en aves migratorias y residentes por Bisson y colaboradores (2009), se determinó que las aves residentes tenían en sus plumas una mayor diversidad de microorganismos que las migratorias, posiblemente por una mayor exposición por actos de forrajeo. En el caso de *C. livia*, las muestras fueron tomadas de zonas con un contacto estrecho con humanos en las que son alimentadas por estos o tienen alta disponibilidad de alimentos. Esto puede reducir la necesidad de búsqueda y forrajeo, lo que implica que el ave se expone menos a microorganismos distintos a los que se encuentran presentes en los alimentos que suelen suministrárseles o lugares donde perchan y como tal, tener comunidades bacterianas menos diversas. De forma similar, *C. atratus* se encuentra de forma cercana al ser humano en la ciudad, pero su labor de forrajeo es mayor dado que no es directamente alimentado por el humano y suele estar asociado a zonas de basuras y desechos, lo que los expone a una mayor cantidad de microorganismos y como tal tener comunidades bacterianas más diversas. Adicionalmente, la exposición a estas fuentes de alimentación hace que entre los microorganismos que se encuentren también hayan más con potencial patológico (Plaza, Blanco and Lambertucci, 2020).

La fisiología del tracto gastrointestinal es otro factor influyente en la composición del microbioma gastrointestinal de un individuo. En aves, el tracto gastrointetinal se divide en 9 secciones: cavidad oral, esófago, buche, proventrículo, molleja, intestino delgado, ciego, intestino largo y cloaca. Entre especies se presentan variaciones en las características de especies como el pH, el contenido de oxígeno y las comunidades microbianas que regulan la colonización de otras bacterias, incluso patogénicas (Grond *et al.*, 2018). En el caso particular de *C. atratus* el estómago tiene un pH muy bajo que ayuda a regular los microorganismos que colonizan (Plaza, Blanco and Lambertucci, 2020). Por otro lado, estudios han sugerido que la composición del microbioma es uno de los factores de mayor influencia en la protección al interactuar con el sistema inmune del hospedero y mediar la resistencia a la colonización de patógenos (Zepeda Mendoza *et al.*, 2018).

De acuerdo con lo reportado en la literatura, *C. livia* ha sido descrita como un portador de una gran cantidad de microorganismos con potencial patogénico y zoonótico para los seres humanos (Magnino *et al.*, 2009). En la clasificación taxonómica se encontró que para la familia Enterobacteriaceae la base de datos SILVA categorizó a nivel de género 328,034 lecturas como *Escherichia-Shigella*. Estos resultados pueden deberse a que la similaridad nucleotídica entre estos géneros es alta, lo que dificulta su diferenciación por métodos moleculares como la secuenciación del gen ARNr 16S (Devanga Ragupathi *et al.*, 2018). Adicionalmente, algunos autores han planteado que, desde el punto de vista genómico, no existen diferencias fuertes que permitan separar ambos géneros y las especies del género *Shigella* son simplemente serotipos de *Escherichia* (Pettengill, Pettengill and Binet, 2016). El hallazgo de microorganismos con potencial patogénico y zoonótico para los humanos, del género *Streptococcus*, *Campylobacter*, *Klebsiella* y la especie *Chlamydia psittaci* concuerda con lo reportado en otros estudios para *C. livia*, siendo esta última una infección común en las palomas a nivel mundial (Tanaka *et al.*, 2005; Magnino *et*

al., 2009; Santos *et al.*, 2020). A pesar de la distribución global y contacto estrecho que pueda tener *C. livia* con el humano, el riesgo de zoonosis de microorganismos patógenos de palomas a humanos es bajo pero existente (Haag-Wackernagel and Moch, 2004). Para *C. atratus*, su tipo de dieta, su relativa proximidad con los humanos en las ciudades y alimentación de fuente antropogénicas como basureros podría convertir a los buitres en fuentes de enfermedades causadas por patógenos zoonóticos que afecten a animales domésticos y seres humanos (Ogada, Keesing and Virani, 2012; Oro *et al.*, 2013; Moleón *et al.*, 2014; Meng *et al.*, 2017; Plaza, Blanco and Lambertucci, 2020). Sin embargo, no se han reportado hasta el momento casos de transmisión buitre a humano, lo que no implica que no pueda ocurrir (Plaza, Blanco and Lambertucci, 2020).

CONCLUSIONES

Las comunidades de bacterias encontradas en la materia fecal de *C. livia* y *C. atratus* de Colombia difieren en su composición taxonómica con las muestras de otros países. Enterobacteriaceae y Enterococcaceae fueron las familias más abundantes y frecuentes en *C. livia*, mientras que para *C. atratus* y *G. fulvus* fueron Fusobacteriaceae y Peptostreptococcaceae. Individualmente, las familias más abundantes para *C. livia* fueron similares en todos los casos, a excepción de Holanda, donde la familia más abundante fue Corynebacteriaceae. Para los buitres la composición bacteriana fue mucho más heterogénea y para las muestras de Colombia las familias más abundantes fueron Lachnospiraceae y Enterococcaceae. Los resultados sugieren una alta influencia de la dieta y la ubicación geográfica, y además concuerdan con la importancia de la taxonomía del huésped sobre el microbioma. Adicionalmente, se detectó la presencia de microorganismos con potencial patogénico y zoonótico del género *Campylobacter*, *Streptococcus*, *Chlamydia* y *Atopobium* en las muestras de *C. livia* y *Clostridium*, *Klebsiella*, *Helicobacter*, *Fusobacterium*, *Campylobacter* y *Chlamydia* en *C. atratus*. El mayor número de lecturas correspondientes a microorganismos

potencialmente patogénicos se encontró en las muestras de *C. atratus*, posiblemente por su adquisición del medio. Sin embargo, la mayor cercanía de *C. livia* con el ser humano podría incrementar el riesgo de zoonosis.

Este estudio establece una línea base para el monitoreo del microbioma asociado a *C. livia* y *C. atratus* en la ciudad de Cali y su importancia en la salud pública. Como perspectivas a futuro, se espera continuar con el seguimiento de la composición del microbioma gastrointestinal, incluyendo un mayor número de muestras e incluso otras especies de aves, que permita evaluar y establecer los microorganismos asociados frecuentemente al grupo taxonómico aves, su influencia en la salud de estas y las posibles implicaciones en enfermedades de transmisión zoonóticas en la ciudad de Cali.

AGRADECIMIENTOS

A los profesores Andrés Castillo y Diana López su paciencia y apoyo y al señor Davis Travis, que permitió la recolección de la muestra de buitre de la zona de La Reforma.

LITERATURA CITADA

Bardou, P. *et al.* (2014) ‘jvenn: an interactive Venn diagram viewer’, *BMC Bioinformatics*, 15(1), p. 293. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-15-293>.

Bisanz, J.E. (2018) *qiime2R: Importing QIIME2 artifacts and associated data into R sessions*. Available at: <https://github.com/jbisanz/qiime2R>.

Bodawatta, K.H. *et al.* (2022) ‘Avian gut microbiomes taking flight’, *Trends in Microbiology*, 30(3), pp. 268–280. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.07.003>.

Bolyen, E. *et al.* (2019) ‘Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2’, *Nature Biotechnology*, 37(8), pp. 852–857. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>.

Davidson, G.L. *et al.* (2020) ‘Diet induces parallel changes to the gut microbiota and problem solving performance in a wild bird’, *Scientific Reports*, 10(1), p. 20783. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77256-y>.

Devanga Ragupathi, N.K. *et al.* (2018) ‘Accurate differentiation of *Escherichia coli* and *Shigella* serogroups: challenges and strategies’, *New Microbes and New Infections*, 21, pp. 58–62. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nmni.2017.09.003>.

Dewar, M.L. *et al.* (2013) ‘Interspecific variations in the gastrointestinal microbiota in penguins’, *MicrobiologyOpen*, 2(1), pp. 195–204. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/mbo3.66>.

Dietz, M.W. *et al.* (2022) ‘Gut microbiota of homing pigeons shows summer-winter variation under constant diet indicating a substantial effect of temperature’, *bioRxiv*, p. 2022.05.18.492417. Available at: <https://doi.org/10.1101/2022.05.18.492417>.

Douglas, G.M. *et al.* (2020) ‘PICRUSt2 for prediction of metagenome functions’, *Nature Biotechnology*, 38(6), pp. 685–688. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0548-6>.

Ebani, V. V *et al.* (2021) ‘Survey on the Presence of Bacterial and Parasitic Zoonotic Agents in the Feces of Wild Birds’, *Veterinary Sciences*. Available at: <https://doi.org/10.3390/vetsci8090171>.

Escallón, C., Belden, L.K. and Moore, I.T. (2019) ‘The Cloacal Microbiome Changes with the Breeding Season in a Wild Bird’, *Integrative Organismal Biology*, 1(1), p. oby009. Available at: <https://doi.org/10.1093/iob/oby009>.

García-Amado, M.A. *et al.* (2018) ‘Comparison of gizzard and intestinal microbiota of wild neotropical birds’, *PLOS ONE*, 13(3), p. e0194857. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194857>.

Grond, K. *et al.* (2018) ‘The avian gut microbiota: community, physiology and function in wild birds’, *Journal of Avian Biology*, 49(11), p. e01788. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jav.01788>.

Haag-Wackernagel, D. and Moch, H. (2004) ‘Health hazards posed by feral pigeons’, *Journal of Infection*, 48(4), pp. 307–313. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2003.11.001>.

Heitlinger, E. *et al.* (2017) ‘The Intestinal Eukaryotic and Bacterial Biome of Spotted Hyenas: The Impact of Social Status and Age on Diversity and Composition ’, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* . Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2017.00262>.

Hird, S.M. *et al.* (2014) ‘Sampling locality is more detectable than taxonomy or ecology in the gut microbiota of the brood-parasitic Brown-headed Cowbird (*Molothrus ater*)’, *PeerJ*. Edited by R. Toonen, 2, p. e321. Available at: <https://doi.org/10.7717/peerj.321>.

Hird, S.M. *et al.* (2015) ‘Comparative Gut Microbiota of 59 Neotropical Bird Species ’, *Frontiers in Microbiology* . Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.01403>.

Leo, L. and Sudarshan, S. (2017) *Tools for microbiome analysis in R. Microbiome package*

version 1.16.0, Bioconductor. Available at: <http://microbiome.github.com/microbiome>.

Ley, R.E. *et al.* (2008) 'Evolution of Mammals and Their Gut Microbes', *Science*, 320(5883), pp. 1647–1651. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1155725>.

Love, M.I., Huber, W. and Anders, S. (2014) 'Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2', *Genome Biology*, 15(12), p. 550. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>.

Magnino, S. *et al.* (2009) 'Chlamydial infections in feral pigeons in Europe: Review of data and focus on public health implications', *Veterinary Microbiology*, 135(1), pp. 54–67. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.045>.

McMurdie, P.J. and Holmes, S. (2013) 'phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data', *PLOS ONE*, 8(4), p. e61217. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>.

Meng, X. *et al.* (2017) 'Metataxonomics reveal vultures as a reservoir for *Clostridium perfringens*', *Emerging Microbes & Infections*, 6. Available at: <https://doi.org/10.1038/emi.2016.137>.

Mia, M.M., Hasan, M. and Hasnath, M.R. (2022) 'Global prevalence of zoonotic pathogens from pigeon birds: A systematic review and meta-analysis', *Heliyon*, 8(6), p. e09732. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09732>.

Moleón, M. *et al.* (2014) 'Humans and Scavengers: The Evolution of Interactions and Ecosystem Services', *BioScience*, 64(5), pp. 394–403. Available at: <https://doi.org/10.1093/biosci/biu034>.

Ogada, D.L., Keesing, F. and Virani, M.Z. (2012) 'Dropping dead: causes and consequences of vulture population declines worldwide.', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1249, pp. 57–71. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06293.x>.

Oliveira, B.C.M. *et al.* (2020) 'The fecal microbiota of wild and captive raptors', *Animal Microbiome*, 2(1), p. 15. Available at: <https://doi.org/10.1186/s42523-020-00035-7>.

Oro, D. *et al.* (2013) 'Ecological and evolutionary implications of food subsidies from humans', *Ecology Letters*, 16(12), pp. 1501–1514. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ele.12187>.

Pettengill, E.A., Pettengill, J.B. and Binet, R. (2016) 'Phylogenetic Analyses of *Shigella* and Enteroinvasive *Escherichia coli* for the Identification of Molecular Epidemiological Markers: Whole-Genome Comparative Analysis Does Not Support Distinct Genera Designation', *Frontiers in Microbiology*. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.01573>.

Plaza, P.I., Blanco, G. and Lambertucci, S.A. (2020) 'Implications of bacterial, viral and mycotic microorganisms in vultures for wildlife conservation, ecosystem services and public health', *Ibis*, 162(4), pp. 1109–1124. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ibi.12865>.

Quast, C. *et al.* (2013) ‘The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools’, *Nucleic Acids Research*, 41(D1), pp. D590–D596. Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.

Roggenbuck, M. *et al.* (2014) ‘The microbiome of New World vultures’, *Nature Communications*, 5(1), p. 5498. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncomms6498>.

Rosenberg, E. and Zilber-Rosenberg, I. (2013) ‘Role of Microorganisms in Adaptation, Development, and Evolution of Animals and Plants: The Hologenome Concept BT - The Prokaryotes: Prokaryotic Biology and Symbiotic Associations’, in E. Rosenberg *et al.* (eds). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 347–358. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-642-30194-0_117.

Santos, H.M. *et al.* (2020) ‘Common bacterial, viral, and parasitic diseases in pigeons (*Columba livia*): A review of diagnostic and treatment strategies’, *Veterinary Microbiology*, 247, p. 108779. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108779>.

Shetty, S.A. *et al.* (2018) ‘microbiomeutilities: An R package for utilities to guide in-depth marker gene amplicon data analysis’, *Ecophysiological insights into the human intestinal microbiota: from single strains to defined consortia*, p. 95.

Spennemann, D. and Watson, M. (2017) ‘Dietary Habits of Urban Pigeons (*Columba livia*) and Implications of excreta pH—A Review’, *European Journal of Ecology*, 3, pp. 27–41. Available at: <https://doi.org/10.1515/eje-2017-0004>.

Sun, F. *et al.* (2022) ‘The avian gut microbiota: Diversity, influencing factors, and future directions ’, *Frontiers in Microbiology* . Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.934272>.

Szyfres, B. and Acha, P.N. (1986) *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*.

Tanaka, C. *et al.* (2005) ‘Bacteriological survey of feces from feral pigeons in Japan.’, *The Journal of veterinary medical science*, 67(9), pp. 951–953. Available at: <https://doi.org/10.1292/jvms.67.951>.

Trujillo, S.M. *et al.* (2022) ‘Intrinsic and extrinsic factors influence on an omnivore’s gut microbiome’, *PLOS ONE*, 17(4), p. e0266698. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266698>.

Vélez, D. *et al.* (2021) ‘Distribution of birds in Colombia’, *Biodiversity Data Journal*, 9, p. e59202. Available at: <https://doi.org/10.3897/BDJ.9.e59202>.

Waite, D. and Taylor, M. (2015) ‘Exploring the avian gut microbiota: current trends and future directions ’, *Frontiers in Microbiology* . Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.00673>.

Wickham, H. (2016) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.

Available at: <https://ggplot2.tidyverse.org>.

Wickham, H. *et al.* (2019) ‘Welcome to the Tidyverse’, *Journal of open source software*, 4(43), p. 1686.

Wickham, H., Hester, J. and Chang, W. (2021) ‘Devtools: Tools to Make Developing R Packages Easier; 2.4. 3’. CRAN.

Youngblut, N.D. *et al.* (2018) ‘Host diet and evolutionary history explain different aspects of gut microbiome diversity among vertebrate clades’, *Nature Communications*, 10.

Zepeda Mendoza, M.L. *et al.* (2018) ‘Protective role of the vulture facial skin and gut microbiomes aid adaptation to scavenging’, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 60(1), p. 61.
Available at: <https://doi.org/10.1186/s13028-018-0415-3>.

Zoelzer, F., Burger, A.L. and Dierkes, P.W. (2021) ‘Unraveling differences in fecal microbiota stability in mammals: from high variable carnivores and consistently stable herbivores’, *Animal Microbiome*, 3(1), p. 77. Available at: <https://doi.org/10.1186/s42523-021-00141-0>.

Tabla 1. Metadato de las muestras utilizadas.

Muestra	Nombre referencia	Especie	Ciudad	País
CAM1	COLP1	<i>Columba livia</i>	Cali	Colombia
D2	COLP2	<i>Columba livia</i>	Cali	Colombia
SF1	COLP3	<i>Columba livia</i>	Cali	Colombia
LR1	COLG1	<i>Coragyps atratus</i>	Cali	Colombia
PE2	COLG2	<i>Coragyps atratus</i>	Cali	Colombia
SE1	COLG3	<i>Coragyps atratus</i>	Cali	Colombia
CATRA1	USA1	<i>Coragyps atratus</i>	NN	Estados Unidos
CATRA2	USA2	<i>Coragyps atratus</i>	NN	Estados Unidos
CATRA3	USA3	<i>Coragyps atratus</i>	NN	Estados Unidos
CATRA4	USA4	<i>Coragyps atratus</i>	NN	Estados Unidos
CATRA5	USA5	<i>Coragyps atratus</i>	NN	Estados Unidos
CATRA6	USA6	<i>Coragyps atratus</i>	NN	Estados Unidos
GYF1	EAU1	<i>Gyps fulvus</i>	NN	Emiratos Árabes
GYF3	EAU2	<i>Gyps fulvus</i>	NN	Emiratos Árabes
GYF4	EAU3	<i>Gyps fulvus</i>	NN	Emiratos Árabes
CLIVSQ1	CHI1	<i>Columba livia</i>	Beijing	China
CLIVSQ2	CHI2	<i>Columba livia</i>	Beijing	China
CLIVSQ3	CHI3	<i>Columba livia</i>	Beijing	China

CLIVDIE1	HOL1	<i>Columba livia</i>	Groningen	Países Bajos
CLIVDIE2	HOL2	<i>Columba livia</i>	Groningen	Países Bajos
CLIVDIE3	HOL3	<i>Columba livia</i>	Groningen	Países Bajos
CLIVDIE4	HOL4	<i>Columba livia</i>	Groningen	Países Bajos

Tabla 2. Resumen información del procesamiento de lecturas.

sample-id	entrada	filtrado	% pasaron filtro	denoised	no quimérico	% no quimérico
#q2:types	numérico	numérico	numérico	numérico	numérico	numérico
CAM1	194618	175614	90.24	174651	120686	62.01
CATRA1	9349	8636	92.37	6998	6724	71.92
CATRA2	7495	6884	91.85	5716	5522	73.68
CATRA3	8120	7453	91.79	6621	6457	79.52
CATRA4	11468	10616	92.57	8783	8247	71.91
CATRA5	9966	9102	91.33	8396	8028	80.55
CATRA6	11043	9889	89.55	8606	7862	71.19
CLIVDIE1	33244	28614	86.07	28230	12367	37.2
CLIVDIE2	10392	8914	85.78	8637	4889	47.05
CLIVDIE3	14323	12517	87.39	12329	4932	34.43
CLIVDIE4	1666	1334	80.07	1261	847	50.84
CLIVSQ1	42106	40985	97.34	40903	39769	94.45
CLIVSQ2	49979	48708	97.46	48641	45974	91.99
CLIVSQ3	48228	46929	97.31	46874	46227	95.85
D2	158849	144557	91	143881	81485	51.3
GYF1	50625	41157	81.3	40355	23069	45.57
GYF3	314514	259287	82.44	255558	151446	48.15
GYF4	182663	156150	85.49	154426	95089	52.06
LR1	137437	124808	90.81	122973	50767	36.94
PE2	173624	154413	88.94	152022	63356	36.49
SE1	137851	125090	90.74	122053	65643	47.62
SF1	146777	131667	89.71	130882	77453	52.77

Tabla 3. Índices de diversidad alfa.

Muestra	Observado	Chao1	Shannon	Simpson
COLP1	95,00	95,00	2,08	0,81
COLP2	84,00	84,00	2,36	0,85
COLP3	129,00	129,00	2,59	0,89
COLG1	178,00	178,00	2,90	0,84
COLG2	200,00	200,00	2,97	0,91
COLG3	363,00	363,00	2,83	0,88
M <i>C. livia</i> , CO	102,67	102,67	2,34	0,85
M <i>C. atratus</i> , CO	247,00	247,00	2,90	0,87
p-value	0,14	0,14	0,07	0,36

Figura 1. Abundancia relativa de bacterias para las muestras de *C. livia* por país: **A.** Phylum **B.** Clase **C.** Orden **D.** Familia.

Figura 2. Abundancia relativa de bacterias para las muestras de buitres por país: **A.** Phylum **B.** Clase **C.** Orden **D.** Familia.

Figura 3. A. Porcentaje de familias compartidas más abundantes por especie y ubicación.

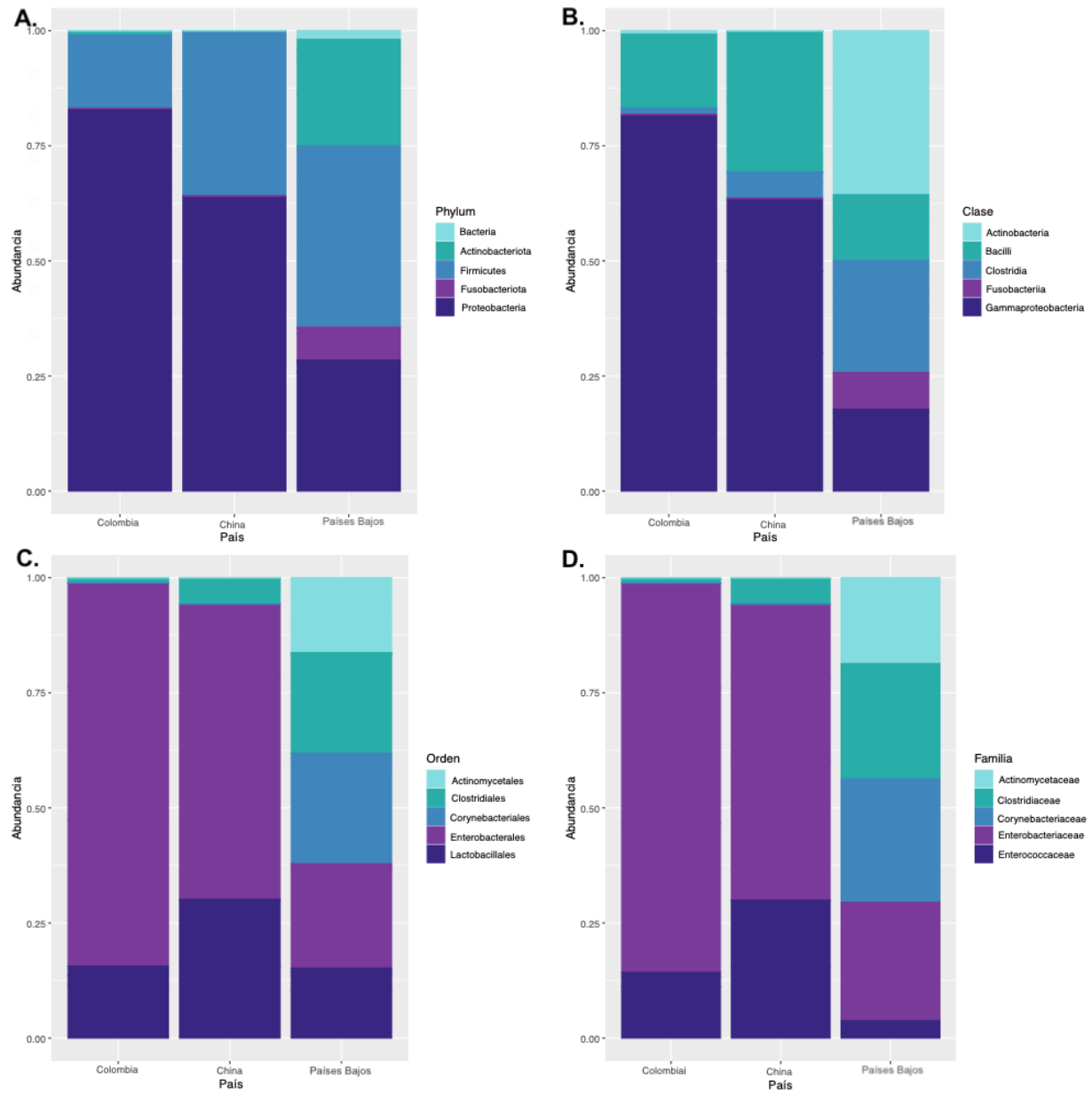
Figura 4. A. Índices de riqueza de ASVs (amplicon sequence variant), diversidad (Shannon), dominancia (Simpson) de las comunidades bacterianas de *C. livia*. **B.** Índices de riqueza de ASVs (amplicon sequence variant), diversidad (Shannon), dominancia (Simpson) de las comunidades bacterianas de *C. atratus*.

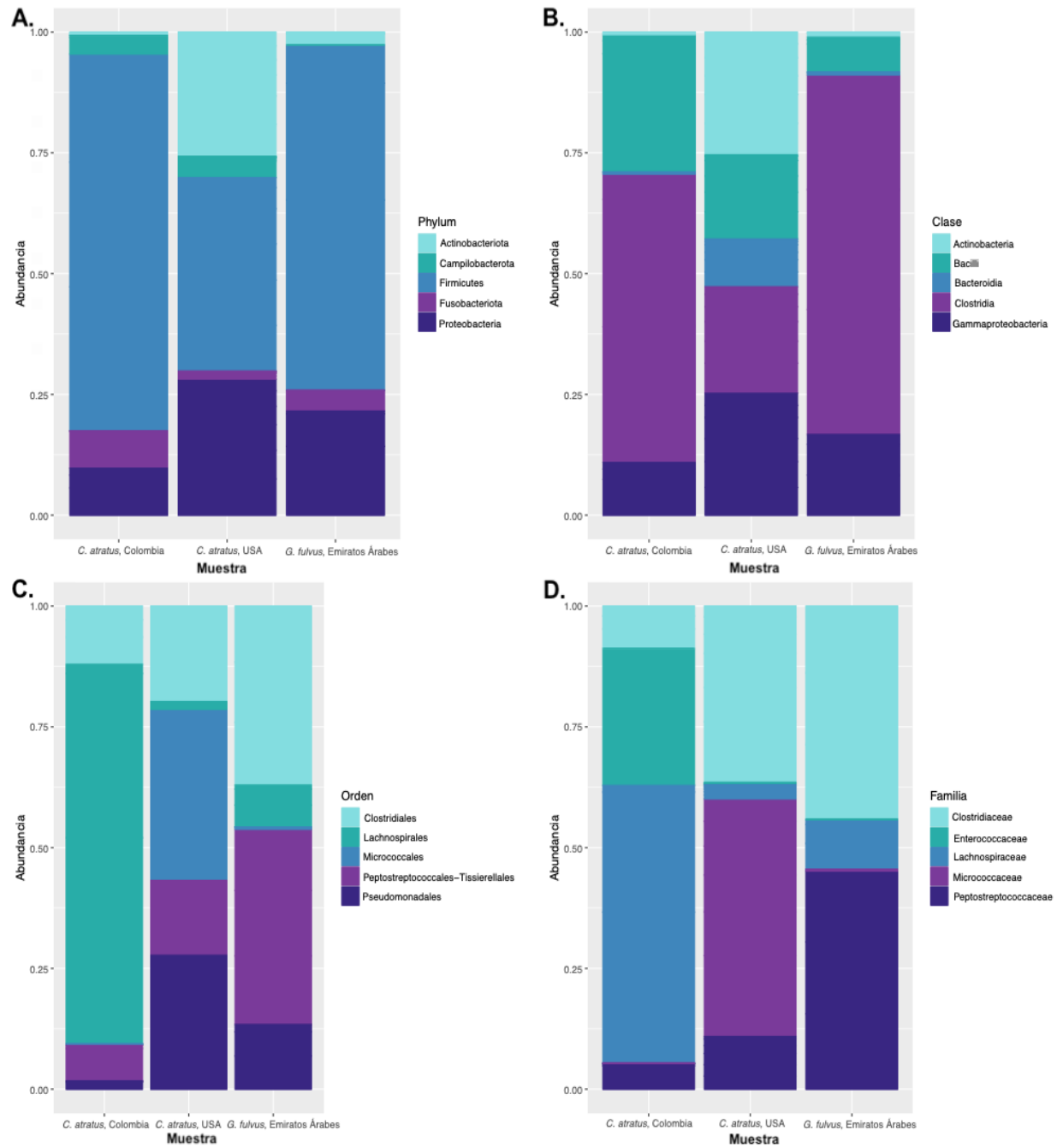
Figura 5. A. Análisis de coordenadas principales (PCoA) para las seis muestras de *C. atratus* y *C. livia* de la ciudad de Cali usando Bray-Curtis con la abundancia relativa de las muestras. **B.** Relación logarítmica transformada de la abundancia relativa de géneros bacterianos entre las muestras de *C. livia* y *C. atratus* de la ciudad de Cali.

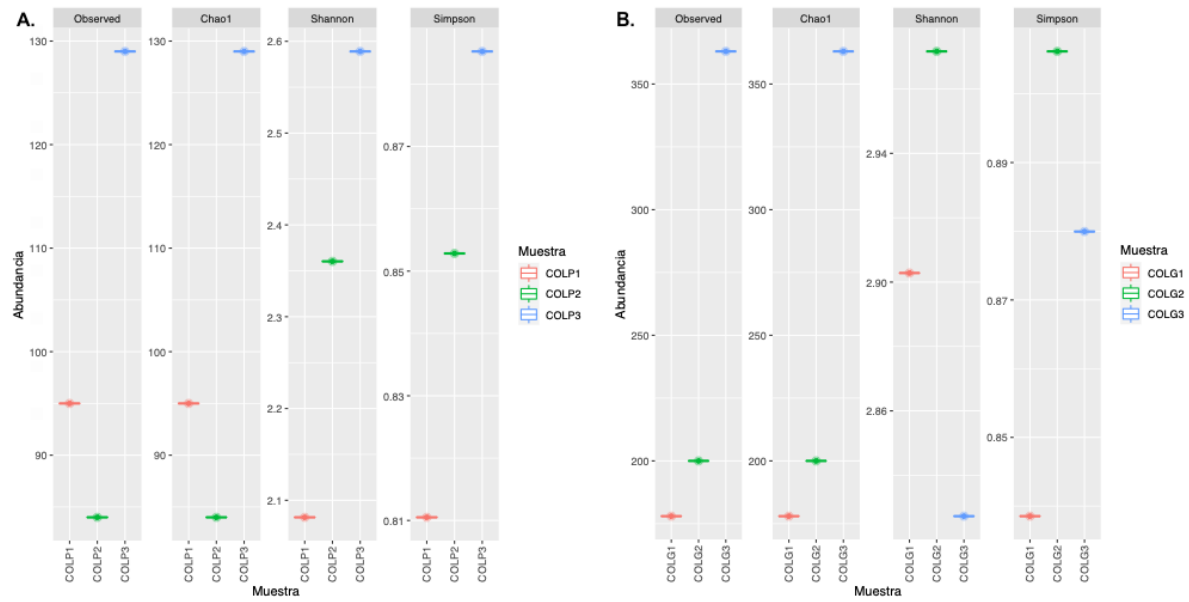
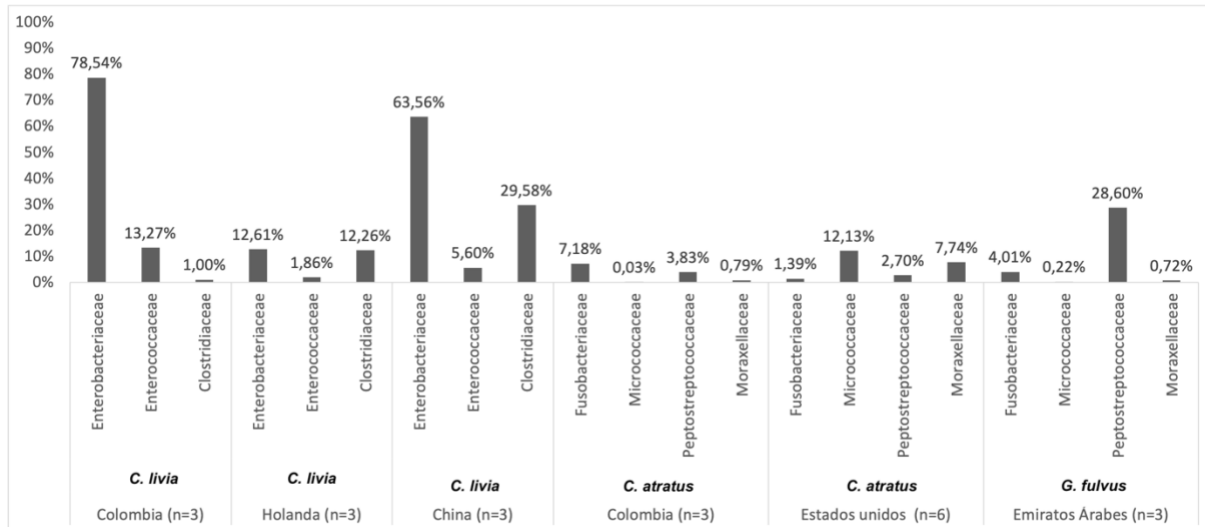
Figura S1. Mapa de procedencia de las muestras utilizadas. Colombia: *C. livia* (n=3), *C. atratus* (n=3). Holanda: *C. livia* (n=3). China: *C. livia* (n=3). Estados Unidos: *C. atratus* (n=6). Emiratos Árabes: *G. fulvus* (n=3).

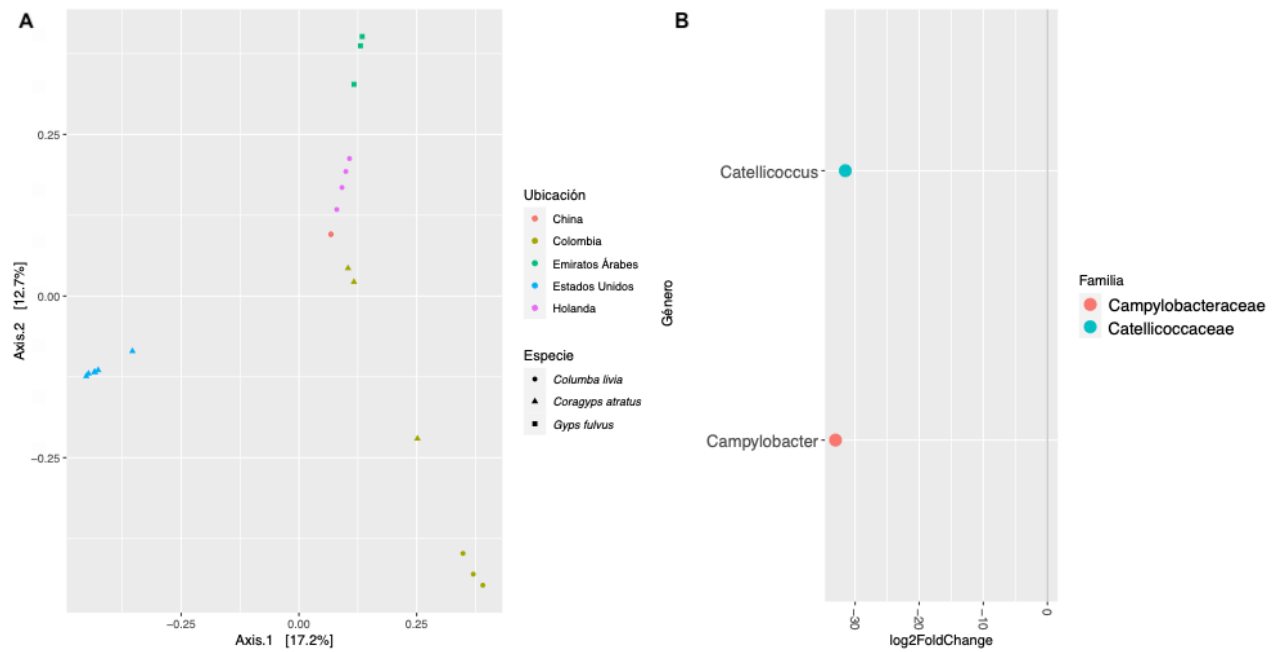
Figura S2. Diagramas de Venn a nivel de: **A.** Phylum para *C. livia* y *C. atratus* de Cali. **B.** Phylum para todas las muestras de palomas. **C.** Phylum para todas las muestras de buitres. **D.** Clase para *C. livia* y *C. atratus* de Cali. **E.** Clase para todas las muestras de palomas. **F.** Clase para todas las muestras de buitres. **G.** Orden para *C. livia* y *C. atratus* de Cali. **H.** Clase para todas las muestras de palomas. **I.** Clase para todas las muestras de buitres. **J.** Familia para *C. livia* y *C. atratus* de Cali. **K.** Familia para todas las muestras de palomas **L.** Familia para todas las muestras de buitres.

Figura S3. Rutas metabólicas MetaCyc obtenidas en PICRUSt2.

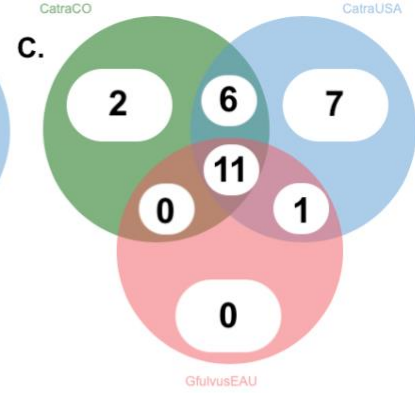
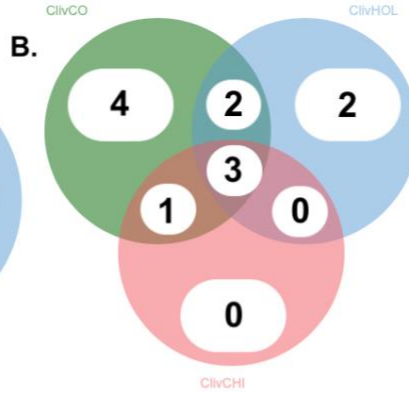
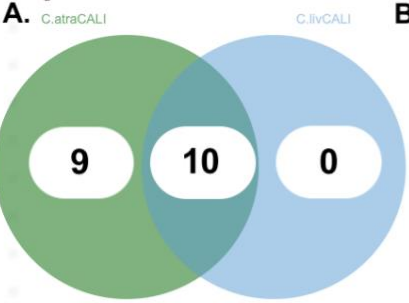




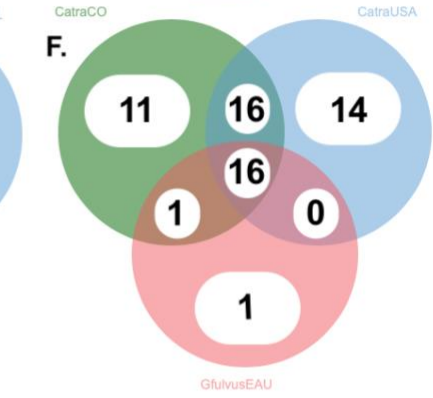
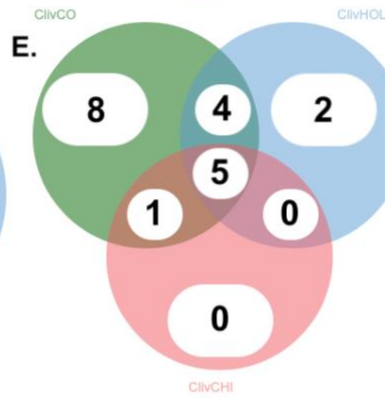
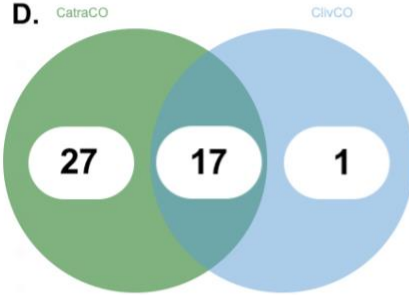




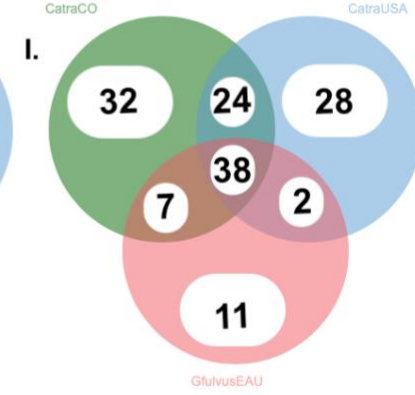
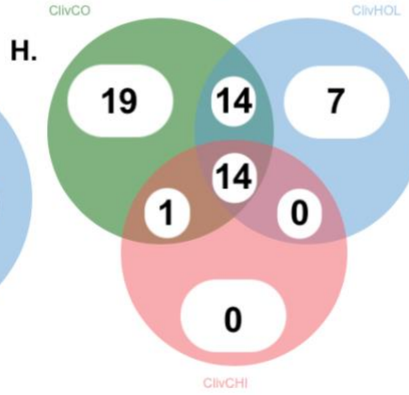
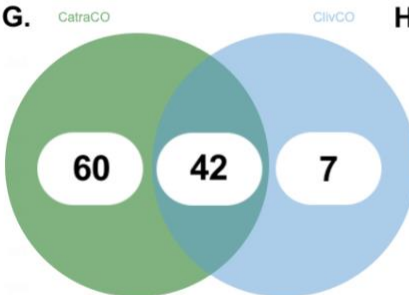
Phylum



Clase



Orden



Familia

