

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA AGRÍCOLA



CARACTERIZACION DE BACTERIAS ACIDO LACTICAS ANTARTICAS

PABLO ANDRES AGUILERA GONZALEZ

HABILITACIÓN PROFESIONAL
PRESENTADA A LA FACULTAD DE
INGENIERÍA AGRÍCOLA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN,
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AMBIENTAL

CHILLÁN-CHILE

2022

CARACTERIZACION DE BACTERIAS ACIDO LACTICAS ANTARTICAS

Aprobado por:

Mónica Montory González
Bioquímica, Ph. Dra.
Profesor Asistente

Profesor Guía

Javier Ferrer Valenzuela
Ingeniero Civil Químico, Mg.
Profesor Asociado

Profesor Co-Guía

Olga Herrera Vega
Ingeniera Ambiental.
Profesor Asistente

Profesor Asesor

Nicole Uslar Valle
Ingeniero Civil Agrícola, Ph. D.
Profesor Asistente

Director de Departamento

María Eugenia González Rodríguez
Ingeniero Agrónomo, Ph. D.
Profesor Asociado

Decana

ÍNDICE DE MATERIAS

	Página
RESUMEN.....	¡Error! Marcador no definido.
SUMMARY	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. Características de la antartida	3
1.2. Diversidad microbiana en la antartida	5
1.3. Adaptabilidad microbiana en la antartida.....	6
1.4. Bacterias lácticas (BAL).....	7
2. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo general	11
2.2. Objetivos específicos.....	11
3 .METODOLOGIA	12
4.DISCUCION Y RESULTADOS	14
4.1. Contexto climático de las muestras	14
4.2. Resultados obtenidos en laboratorio continental.....	19
4.3 Comparación entre los medios de cultivo utilizados (MRS y LBS)	22
4.4. Resultados en el medio biótico y abiótico antártico	28
4.5. Resultados morfológicos con muestras continentales.....	34
5. CONCLUSION.....	39
5. REFERENCIAS	40

ÍNDICE DE TABLAS

En el texto	Página
Tabla 1. Aplicaciones biotecnológicas de las BAL.....	9
Tabla 2. Datos meteorológicos del año 2020 obtenidos por la dirección meteorológica de Chile en la estación C.M.A Eduardo Frei Montalva, antártica	17
Tabla 3. Categorización de muestras ambientales	19
Tabla 4. Éxito alcanzado en pingüinos por cada tipo de muestra con medio de cultivo MRS.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Mapa del continente antártico.....	3
Figura 2.	Principales aspectos y condiciones de la vida microbiana Antártica	10
Figura 3.	Rosa de los vientos mensual. Representa la dirección predominante e intensidad de los vientos durante el año 2020 en la base Antártica Eduardo Frei Montalva	16
Figura 4.	Lugares en donde se obtuvieron las muestras (A) Muestras ambientales. (B) Muestras biológicas asociadas a peces (color azul) y pingüinos (color rojo).....	16
Figura 5.	Mapa del continente antártico.....	21
Figura 6.	Resultados diarios de las muestras de pingüinos exitosas en cada medio de cultivo	24
Figura 7.	Resultados diarios de las muestras ambientales (elefanteria) exitosas en cada medio de cultivo	25
Figura 8.	Resultados diarios de las muestras ambientales (Ardley-Collins) exitosas en cada medio de cultivo.....	27
Figura 9.	Distribución de las cepas cultivadas en MRS, con respecto al medio biótico y abiótico. Obtenidas en laboratorio antártico	28
Figura 10.	Diferentes biotas en donde se encontraron bacterias ácido Lácticas (cultivadas en medio MRS). Obtenidas en laboratorio antártico.....	29
Figura 11.	Medios abióticos en donde se desarrollaron bacterias ácido lácticas (cultivadas en medio MRS). Obtenidas en laboratorio antártico	32
Figura 12.	Distribución de las cepas cultivadas en MRS, con respecto al medio biótico y abiótico. Obtenidas en laboratorio continental.....	33
Figura 13.	Distribución morfológica de las bacterias ácido lácticas en el medio biótico.....	34
Figura 14.	Distribución morfológica de las bacterias ácido lácticas en el medio abiótico	36

Figura 15.	Bacterias ácido lácticas de morfología cocoide obtenida de muestras antárticas.....	38
Figura 16.	Bacterias ácido lácticas de morfología cocobacilar obtenida de muestras antárticas	39
Figura 17.	Bacterias ácido lácticas de morfología bacilar obtenida de muestras antárticas.....	39

CARACTERIZACION DE BACTERIAS ACIDO LACTICAS ANTARTICAS

CHARACTERIZATION OF ANTARCTIC LACTIC ACID BACTERIA

Palabras claves: únicas, utilidad, características, positividad, intervención, biótico, abiótico, morfología.

RESUMEN

La Antártida tiene condiciones climáticas únicas, las cuales han otorgado cualidades específicas a los seres vivos de esa región. Aquí los microorganismos han desarrollado diferentes mecanismos para sobrellevar tales condiciones. Considerando la utilidad farmacéutica y biotecnológica de las Bacterias ácido lácticas (BAL), se pretende estudiar las características de estas en el continente. Para ello se usó los datos de la campaña eca-56 en el continente durante el año 2020. Se georeferenciaron las muestras con programas de mapeo y se ordenaron y procesaron mediante el uso de Excel. De acuerdo a los resultados, se obtuvo que las BAL tuvieron mayor positividad a las 48 horas después de extraer las muestras con el medio de cultivo MRS. También se asoció la intervención turística y científica como las principales causas de su llegada al continente. Debido a la distribución entre los medios bióticos y abióticos, tuvo mayor presencia la biota antártica, demostrando además que ha estado circulando mediante las redes tróficas de la región. También se encontraron morfologías cocoide, cocobacilar y bacilo en las BAL. Aun es necesario estudiar con mayor detalle estas bacterias localizadas en la Antártida.

CHARACTERIZATION OF ANTARCTIC LACTIC ACID BACTERIA

Keywords: unique, utility, characteristics, positivity, intervention, biotic, abiotic, morphology.

SUMMARY

Antarctica has unique climatic conditions, which have given specific qualities to the living beings of that region. Here microorganisms have developed different mechanisms to cope with such conditions. Considering the pharmaceutical and biotechnological utility of lactic acid bacteria (LAB), it is intended to study their characteristics in the continent. For this, the data from the eca-56 campaign on the continent during the year 2020 was used. The samples were georeferenced with mapping programs and ordered and processed using Excel. According to the results, it was obtained that the BAL had higher positivity at 48 hours after extracting the samples with the MRS culture medium. Tourism and scientific intervention were also associated as the main causes of their arrival on the continent. Due to the distribution between the biotic and abiotic environments, the Antarctic biota had a greater presence, also demonstrating that it has been circulating through the food webs of the region. Coccoid, coccobacillary, and bacillus morphologies were also found in BAL. It is still necessary to study in greater detail these bacteria located in Antarctica.

1. INTRODUCCION

1.1 CARACTERISTICAS DE LA ANTARTIDA

La Antártida se ubica en el polo sur, teniendo un superficie de catorce millones de kilómetros cuadrados y un diámetro aproximado de 4500 kilómetros. Con respecto a sus delimitaciones, geopolíticamente su límite norte se encuentra en el paralelo de 60° S (Tratado Antártico, 1959) (ver Figura 1). En esta zona se encuentra la corriente circumpolar, entre los 55° y 58° latitud sur, considerándose de este modo como un límite oceanográfico y biológico. Esta corriente cumple un rol preponderante en el equilibrio térmico del planeta (Mayewski et al 2009).

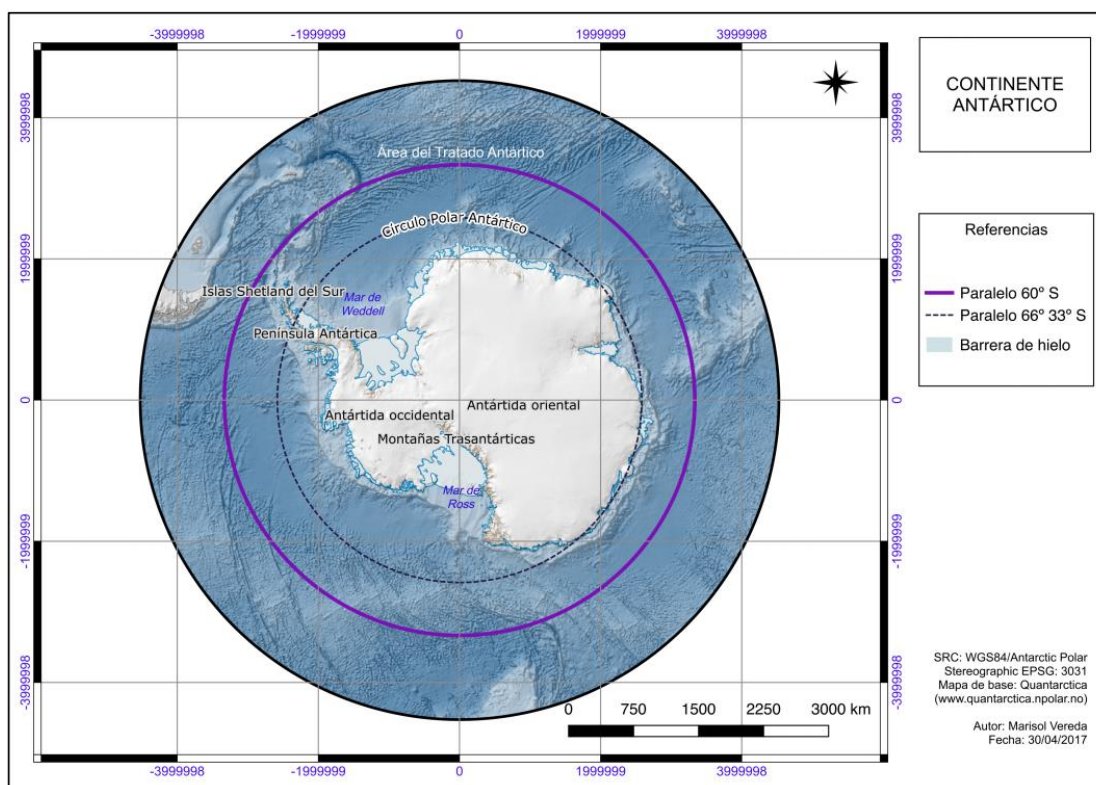


Figura 1 Mapa del continente antártico. Fuente Quantartica

Este continente tiene permanentemente nieve, glaciares y icebergs, por lo que es reconocido por contener casi las tres cuartas partes del agua dulce de todo el mundo, es un reservorio de natural de agua dulce (Izaguirre y Mataloni, 2000).

En relación a su clima, este continente es considerado como el más ventoso y helado del mundo. También se le considera como un “desierto polar”, ya que tiene niveles de humedad bastante bajos (Turner et al, 2009; Convey, 2011). En relación a las temperaturas promedios de este lugar, varían entre los $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ en invierno y en $0,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ en la zona costera durante el verano (Meyer, 2016). La temperatura más baja registrada en el, es de $-89,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Turner et al, 2009).

Debido a lo anteriormente expuesto, las formas de vida en la Antártica deben adaptarse a vivir en condiciones extremas y son los procariotas quienes han colonizado este ambiente; se han encontrado en todos los hábitats de dicho continente, tales como: lagos, lagunas, ríos, arroyos, rocas y suelos y son quienes juegan un rol principal en las cadenas tróficas, en los ciclos biogeoquímicos y en la mineralización de los contaminantes (Gesheva & Vasileva-Tonkova, 2012).

1.2. DIVERSIDAD MICROBIANA EN LA ANTARTIDA

Los organismos de estos lugares han podido desarrollar mecanismos que les han permitido sobrevivir y evolucionar a condiciones extremas dadas principalmente por el clima inhóspito del lugar (Convey y col, 2013). Existen dos categorías para referirse a los microorganismos adaptados al frío: Psicofilicos y psicotolerantes. Las bacterias Psicofilas son aquellas que tienen temperaturas mínimas, óptimas y máximas que están por a o por debajo de los 0, 15 y 20 °C respectivamente y se encuentran en regiones permanentemente frías. Mientras que las bacterias Psicotolerantes tienen temperaturas óptimas y máximas más altas que las anteriores y se encuentran en lugares permanentemente fríos o en regiones subárticas y zonas templadas. (Robinson, 2001; Morita 1975)

Las bacterias psicofilas y psicotolerantes descritas con frecuencia son del tipo Gram negativas, las cuales pertenecen a las clases α -proteobacteria (*Octadecabacter*), β -proteobacteria (*Polaromonas*), γ -proteobacteria (*Colwellia*, *Glacieola*, *Marinobacter*, *Moritella*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Psychromonas*, *Shewanella*, *Vibrio*), δ -proteobacteria (*Desulfuromonas*, *Desulfofrigus*, *Desulfofaba*, *Desulfotalea*) y el phylum *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* (*Polaribacter*, *Psychroflexus*). Mientras que las bacterias Gram positivas más comunes de encontrar son corineformes, *Arthrobacter* sp. Y *Micrococcus* sp (D' Amico y col, 2006; Deming, 2002)

1.3. ADAPTABILIDAD MICROBIANA EN LA ANTÁRTIDA

La biodiversidad y abundancia microbiana existente en la Antártida, probablemente se debe a una falta de competencia en términos ecológicos. Muy pocos organismos poseen la maquinaria celular para mantener un metabolismo óptimo en esas condiciones (Domínguez, 2008). Los microorganismos que habitan en la Antártida presentan múltiples adaptaciones, seguramente desarrolladas a través de un largo período, que les permite habitar bajo un clima que se caracteriza por su extrema severidad (Ali, 2020).

El hecho de que estos microorganismos hayan logrado adaptarse a climas fríos, significa que debieron haber superado problemáticas relacionadas con la baja actividad enzimática; disminución de la fluidez de la membrana; transporte distorsionado de nutrientes y desechos; tasas transcripción, traducción y división celular reducidas; desnaturalización fría de proteínas, plegamiento de proteínas incorrecto y formación de hielo intracelular (D' Amico y col, 2006). Por otro lado, las bajas temperaturas provocan que las bacterias psicrófilas y psicrotolerantes deban hacer frente a una disminución de la energía térmica y del aumento de la viscosidad del agua, lo que produce un flujo metabólico más lento. Para sobrellevar dichos problemas, estas bacterias han desarrollado mecanismos específicos, tales como, respuestas frente al choque térmico (ya sea por calor o frío), crioprotectores (D' Amico y col, 2006). Desarrollo de enzimas adaptadas al frío, la

producción de proteínas anticongelantes (*Antifreeze Proteins, AFPs*) (Gilbert et al, 2005) y el aumento de la fluidez de las membranas a nivel celular (Ali, 2020), entre otras.

Por otro lado varias industrias se han interesado en los estudios relacionados con la Antártida por su fuente de información de gran valor con respecto a nuevas enzimas y materiales poliméricos con funciones y aplicaciones nuevas y biotecnológicas (Nicolaus y col, 2010; Poli y col, 2010; Walton, 2013).

Debido a la gran variedad de capacidades y características que han generado los microorganismos en esta zona del planeta, se ha considerado estudiar un grupo de bacterias que presentan diversas características biotecnológicas en otras zonas del planeta llamadas bacterias ácido lácticas (BAL). Debido al ambiente extremo de la zona de estudio, y de la poca o nula información de estas bacterias en estas latitudes, es que se hace interesante estudiar a estas BAL antárticas.

1.4. BACTERIAS LACTICAS (BAL)

Las bacterias lácticas son un grupo de microorganismos bastante heterogéneo, tanto en el ámbito morfológico, fisiológico y filogenético. Pertenecen al grupo clostridial de las eubacterias Gram positivas. Tienen requerimientos nutricionales bastante exigentes y su principal característica es la producción de ácido láctico, producto de la fermentación de hidratos de

carbono. (Stiles y Holzapfel, 1997; Axelsson et al, 1998). A modo general tienen una morfología cocoide, bacilar o cocobacilar, no esporulados, catalasa-negativos, carentes de citocromos, microaerofilicos o anaeróbicos facultativos, acido-tolerantes y estrictamente fermentativos (Carr et al, 2002; von Wright y Axelsson 2012).

Actualmente los géneros bacterianos involucrados en el grupo de estas bacterias, pertenecen a la familia *Lactobacillales*, orden *Bacilli* del filo *Firmicutes* y son los siguientes: *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Paralactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weissella* (Klein et al, 1998; Ogier y Serror, 2008; De vos et al, 2009).

Las bacterias lácticas se ubican en hábitats bastante diversos, principalmente con bajas tensiones de oxígeno. Por otro lado estos microorganismos se pueden hallar en la microbiota del tracto gastrointestinal y urogenital y en la mucosa de mamíferos. (Axelsson et al, 1998; Carr et al, 2002; von Wright y Axelsson, 2012).

Debido a su ubicuidad y versatilidad metabólica pueden ser usadas como “Fabricas metabólicas” en la producción biotecnológica debido a que pueden producir compuestos antimicrobianos, vitaminas y exopolisacaridos (EPS). Con los cuales se pueden desarrollar productos farmacéuticos, ingredientes

alimenticios, entre otros (Ruiz- Rodríguez y col, 2017), como se aprecia en la tabla 1.

Tabla 1. Aplicaciones biotecnológicas de las BAL.

Propiedad Biotecnológica	Función	Referencia
Formación de Ácidos orgánicos	Mejoran y preservan la seguridad de alimentos. También mejoran sus características organolépticas y su valor nutricional.	Bourdichon y col, 2012
Síntesis de compuestos de aroma	Otorgan olores en alimentos. Algunos ejemplos, son las BAL sintetizadoras de esteres o diacetilo.	Ruiz Rodríguez y col, 2017
Actividad proteolítica	Aumentan la biodisponibilidad de aminoácidos. Algunos de los péptidos liberados, tienen actividades biológicas que contribuyen en la salud del consumidor	Hayes et al, 2007
Producción de Exopolisacaridos (EPS)	La síntesis de los EPS, aportan textura y viscosidad a los alimentos.	Ruas-Madiedo, 2002
Control de microorganismos indeseables	Debido a la producción de metabolitos como ácidos orgánicos, peróxido de hidrogeno, bacteriocinas, entre otros.	Gálvez et al, 2009
Síntesis de compuestos Bioactivos	Las BAL producen compuestos bioactivos como polioles. Estos son bajos en calorías, anticariogénicos y bajo índice glucémico.	Ruiz Rodríguez y col, 2017

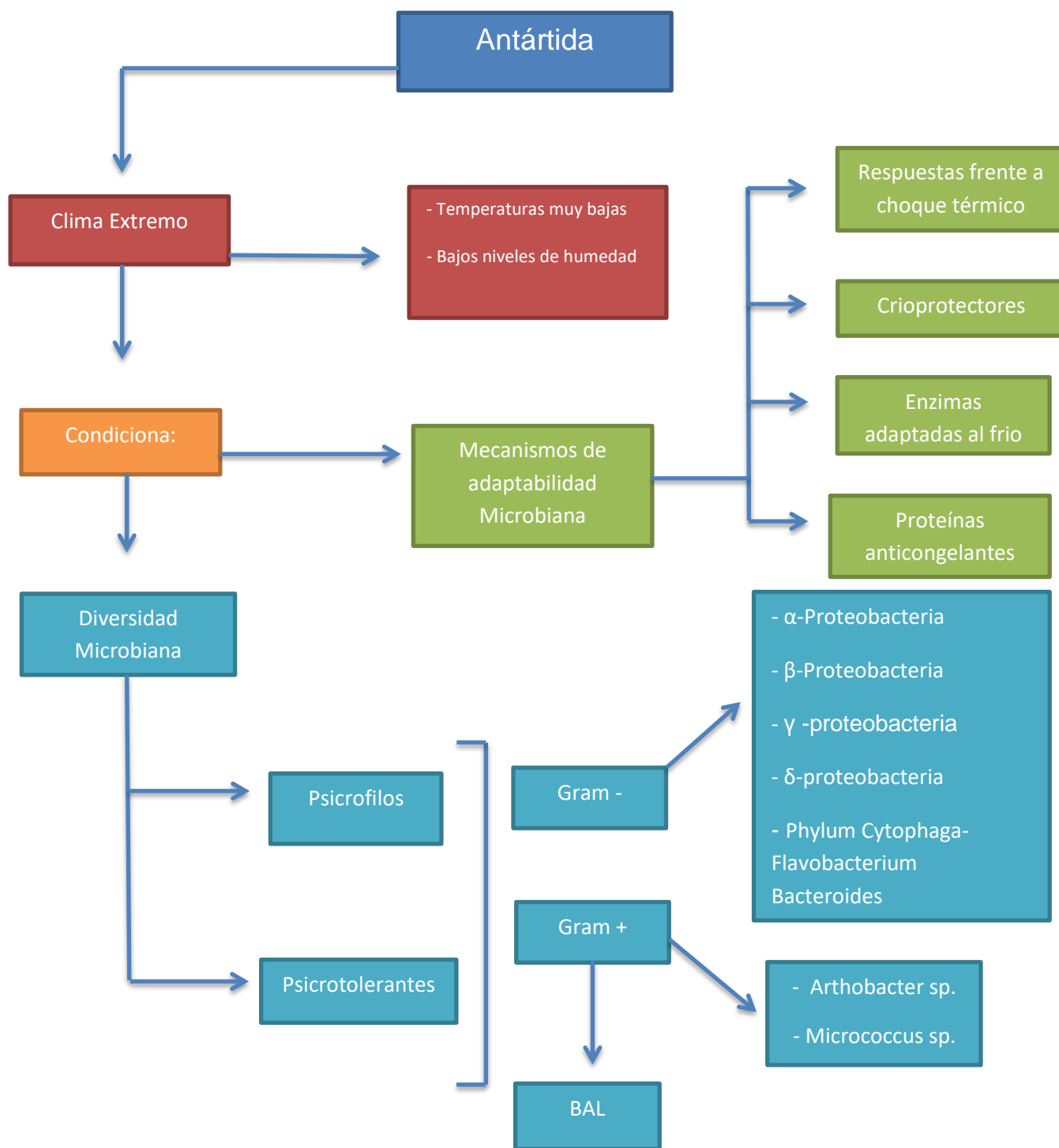


Figura 2. Principales aspectos y condiciones de la vida microbiana Antártica.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General:

Evaluar las propiedades de las BAL Antártica en función de su hábitat.

2.2. Objetivos Específicos:

- Analizar el medio físico y biológico donde se obtuvieron las BAL antárticas.
- Analizar las características de las BAL antárticas.
- Relacionar los tipos de bacterias lácticas con su ubicación geográfica.

3. METODOLOGIA

Objetivo: Analizar el medio físico y biológico donde se obtuvieron las BAL antárticas.

Actividades

A.- Mediante datos proporcionados por la campaña eca-56, se obtendrá información relacionada con el hábitat de las BAL antárticas.

B.- La información será ordenada a través de tablas mediante el uso de Excel 2010 para clasificar las distintas características que se puedan encontrar en el medio físico y biológico de las BAL.

C.- Realizar análisis estadístico con programas como infostat, Excel, entre otros. Posteriormente se realizara un análisis de normalidad para verificar si hay alguna relación en las características de las BAL con respecto a las condiciones físicas y biológicas del ambiente (hipótesis no nula).

D.- Comparar y complementar la información obtenida con bibliografía y publicaciones científicas.

Objetivo: Evaluar las características de las BAL en función de su hábitat de obtención.

Actividades

A.- Mediante datos proporcionados por la campaña eca-56, se tratara información de las BAL antárticas relacionada con sus características de adaptación al medio.

B.- Ordenar la información a través de matrices o tablas, mediante el uso de Excel 2010.

C.- Realizar análisis estadístico de la información con programas como infostat, Excel, entre otros. Para poder clasificar y diferenciar las distintas BAL registradas en la Antártida. Primero se realizara una estadística descriptiva (promedio, desviación estándar, etc.). Posteriormente se realizara un análisis de normalidad para verificar si hay alguna relación en las características de las BAL con respecto a su hábitat (hipótesis no nula).

D.- Comparar y complementar la información obtenida con bibliografía y publicaciones científicas.

Objetivo: Relacionar los tipos de bacterias lácticas con su ubicación geográfica.

Actividades

A.- A través de Excel y programas de mapeo (Google maps, Argis, entre otros) organizar las BAL estudiadas y clasificarlas según su ubicación y características propias.

4. DISCUSION Y RESULTADOS

4.1 Contexto climático de las muestras

Durante el año 2020, según los datos de la base presidente Eduardo Frei Montalva, la dirección de los vientos en este sector fue de sur-este a nor-oeste en gran medida. Por otro lado la velocidad de estos vientos, fue bastante alta durante tal año, alcanzando en reiteradas ocasiones velocidades superiores a los 30 nudos (55 km/h) (figura 3). Al haber tales condiciones de viento, se puede esperar que en el sector Nor-oeste de las islas Shetland (entre ellas la isla Ardley) existan condiciones más complejas para las bacterias que se puedan encontrar en las muestras extraídas de tales zonas. Ya que el viento suele condicionar la sensación térmica de un lugar, debido a la pérdida de calor por convección (Osczevski y Bluestein, 2005). Considerando los tres tipos de muestras obtenidas (figura 5), las

muestras ambientales, serían las más expuestas a vientos extremos durante el año. Mientras que las muestras de peces y las de pingüinos estarían ubicadas en una posición más favorable ambientalmente, en la región sureste de la isla. Es importante considerar que las muestras de peces y pingüinos, están asociadas a condiciones mucho más favorables para la vida bacteriana. En el caso de los pingüinos, estos poseen una temperatura interna de 40°C (Acosta y Lleana, 2005), niveles de humedad variables, mientras que las muestras ambientales están condicionadas directamente por el clima y las condiciones del entorno (tabla 2).

Con respecto a los pingüinos papua y adelia, se ha encontrado la presencia de bacterias *E. Coli* y *Staphylococcus*. La principal causa asociada a esto es la actividad científica en las bases antárticas y el turismo (González et al, 2013) (Nievas., Leotta y Vigo. 2007). Debido a esto se podría esperar encontrar la presencia de este tipo de bacterias en las muestras de pingüinos (figura 4), considerando además que se extrajeron bastante cerca de la base “Gran Muralla” y un poco más lejos de la base “Presidente Eduardo Frei Montalva”. Hasta el momento no hay evidencia científica que respalde la presencia de las bacterias *E. Coli* y *Staphylococcus* en los peces *Notothenia Rossi* y *Harpagifer*. Es importante considerar que la presencia de estas últimas puede dificultar la localización de bacterias Acido Lácticas, ya que todas estas especies competirían por encontrar un hospedador. Por otro lado, las muestras ambientales (figura 4), en su gran mayoría fueron

tomadas en puntos más distantes de estas bases, por lo que encontrar bacterias *E. Coli* y *Staphylococcus* en ellas, es menos probable.

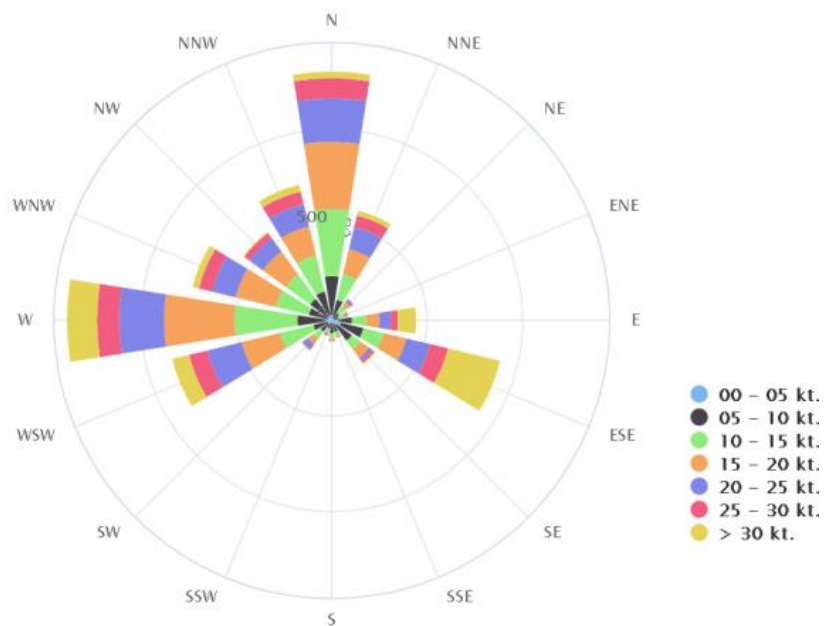


Figura 3. Rosa de los vientos mensual. Representa la dirección predominante e intensidad de los vientos durante el año 2020 en la base Antártica Eduardo Frei Montalva.

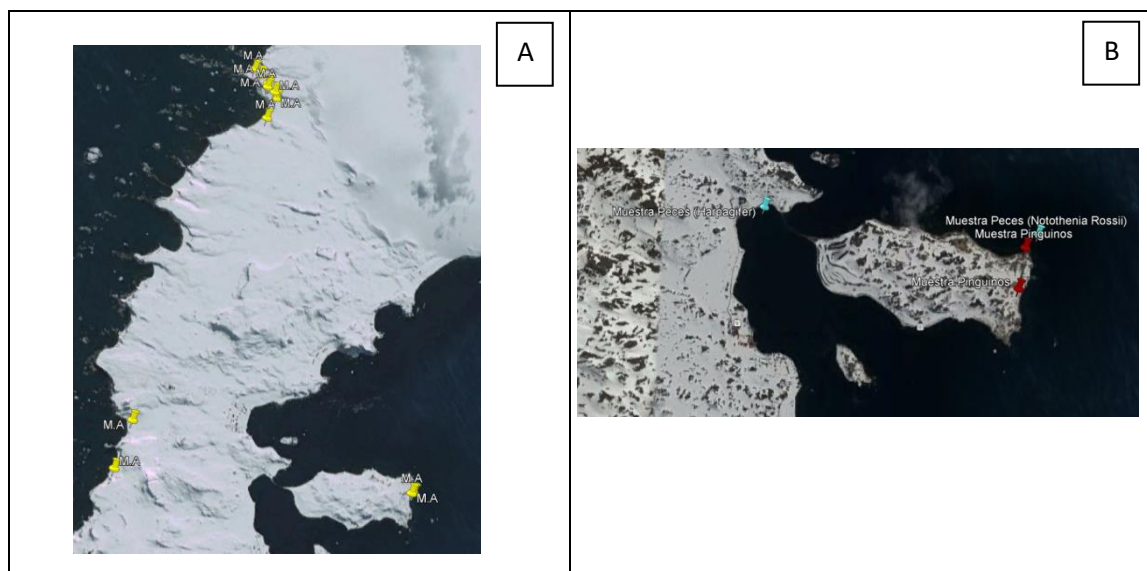


Figura 4. Lugares en donde se obtuvieron las muestras (A) Muestras ambientales. (B) Muestras biológicas asociadas a peces (color azul) y pingüinos (color rojo).

Tabla 2. Datos meteorológicos del año 2020 obtenidos por la dirección meteorológica de Chile en la estación C.M.A Eduardo Frei Montalva, Antártica.

	Temperatura media (°C)	Temperatura mínima (°C)	Temperatura máxima (°C)	Espesor de nieve acumulada en el suelo (cm)	Velocidad máxima del viento a 10 metros de altura (km/h)	Humedad relativa %
Enero	2,3	0,4	4,6	39	5,6	92,7
Febrero	2,2	-1,3	4,5	115	27,8	89,7
Marzo	0,6	-5,4	3,3	119	44,4	90,4
Abril	-0,7	-6,4	2,6	107	61,1	89,7
Mayo	-2,4	-9,4	0,6	109	44,4	90,2
Junio	3,4	-9,3	0,6	108	72,2	91,0
Julio	4,2	-11,6	0,3	112	77,8	87,6
Agosto	-7,9	-16,4	0,5	95	122,2	88,8
Septiembre	-5,1	-18,2	-0,2	99	64,8	90,9
Octubre	-3,2	-8,9	-0,5	121	55,6	91,6
Noviembre	-0,5	-1,8	0,6	119	38,9	93,6
Diciembre	0,5	-1,2	2,0	53	20,4	91,5

De acuerdo a los datos obtenidos (tabla 2) se puede ver que el delta de temperatura máximo alcanzado durante el año 2020 fue de 22,8 °C. Considerando como la temperatura más baja de ese año en el mes de septiembre, llegando a los -18,2 °C. Y la temperatura más alta se alcanzó en el mes de enero, siendo 4,6 °C. Considerando esos niveles de temperatura alcanzados en ese año, es viable afirmar que cualquier bacteria ácido láctica que llegase a estar en esa zona, difícilmente podrá desarrollarse y sobrevivir, ya que el rango de temperatura óptimo para estas especies es de 30-40 °C

(Jay, 2000; Madigan y col, 2004). En ese sentido los niveles de espesor de nieve que se alcanzan, tampoco favorecen las condiciones para estas bacterias ya que implican la presencia de bajas temperaturas durante lapsos de tiempo más largos. De igual modo el viento, como se mencionó anteriormente, puede afectar la sensación térmica. Comprometiendo el crecimiento de estas bacterias (Osczevski y Bluestein, 2005).

Las condiciones de humedad por otro lado son bastante altas, estas se registraron de acuerdo a la humedad relativa en porcentaje. Entiéndase por humedad relativa como la razón entre la humedad actual en el ambiente, con respecto a la humedad potencial que habría si el aire estuviese saturado (Gomez., J. 1943). La evidencia demuestra que la presencia de bacterias ácido lácticas en la producción de quesos, de hecho aumenta los índices de humedad. Por lo que estos altos niveles de humedad ambiental registrados en la Antártida, no debieran ser un factor negativo para estas bacterias y su desarrollo (Cardenas et al, 2014).

En relación a lo indicado anteriormente asociado a las condiciones ambientales, se puede apreciar la tabla 3 que relaciona el origen de las muestras, su cantidad obtenida y su ubicación en la Antártida.

Tabla 3. Categorización de muestras ambientales.

Lugar	Tipo	Cantidad	M.A. Totales
Ardley	Liquen	2	30
	Musgo	2	
	Suelo	2	
Elefanteria	Ambiental Pinípedo	7	
	Skua Fecal	1	
	Elefante Marino	5	
Elefanteria Collins	Foca	3	
	Lobo Marino	3	
	Muestra Ambiental	2	
	Musgo, Liquen	1	
	Skua	1	
Playa Piedra, Ardley	Petrel Fecal	1	

4.2 Resultados obtenidos en laboratorio continental

Se obtuvieron resultados en el laboratorio antártico, los cuales se llevaron nuevamente al continente para volver a ser estudiados. A partir de esto, en la figura 5 se puede visualizar los resultados obtenidos en continente donde hubo mayor positividad de bacterias ácido lácticas. De acuerdo a estos, hubo mayores resultados en las muestras ambientales, específicamente a las muestras asociadas a pinnípedos. Posteriormente le siguieron los pingüinos y finalmente los peces.

Del total de muestras positivas, el 39 % fue otorgado por los pingüinos (figura 5). Como se sabe estos animales tienen una temperatura interna cercana a los 40 °C, siendo un rango bastante aceptable para el desarrollo de las BAL (Madigan y col, 2004).

En el caso de las muestras ambientales totales, estas abarcaron un 41 % del total de los resultados, sobrepasando por muy poco a los pingüinos. Dentro de las muestras ambientales, 50 correspondían a residuos de animales y otras 33 a vegetales (musgos, líquenes, raíces). Estas muestras estarían relacionadas con residuos de animales como focas, elefantes marinos, lobos marinos, skuas, petrel, entre otros y además la mayoría de estas muestras son del tipo fecal. Se debe recordar que muchos de estos depredan y mantienen relaciones tróficas con pingüinos, por lo que lo más probable es que exista un traspaso de BAL mediante las relaciones tróficas. De hecho la evidencia demuestra que los pingüinos tienen contacto estrecho con estas especies como en el caso del petrel que caza pingüinos para alimentar a sus crías (Hunter y Brooke, 1992). Además se ha registrado el caso de skuas atacando nidos de pingüinos para poder alimentarse (Giese, 1995). También es el caso de la foca leopardo, cuya dieta está sustentada de pingüinos entre otras especies (Casaux, 2009; Rogers, 2009).

Con respecto a las muestras asociadas a vegetación, no existe mucha evidencia de que las BAL crezcan en ese tipo de especies, pero lo más

probable es que los animales y sus redes tróficas permitan la deposición y liberación de las BAL en los suelos.

Muestras exitosas en continente

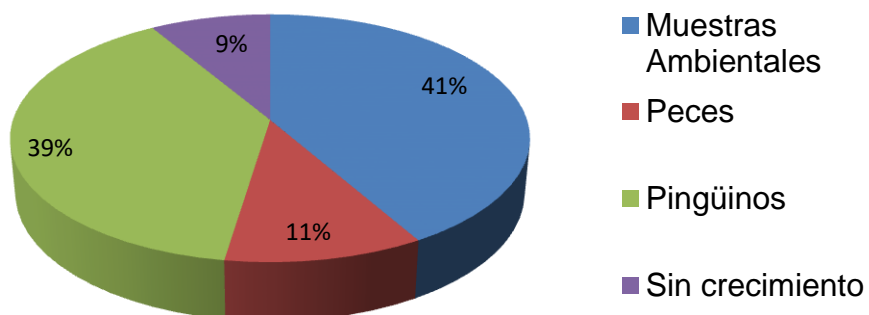


Figura 5. Distribución de éxito por cada tipo de muestra, obtenidos en los laboratorios continentales.

4.3 Comparación entre los medios de cultivo utilizados (MRS y LBS)

Tanto en las muestras de pingüinos, elefanteria y ambientales (figuras 6, 7 y 8 respectivamente), el medio que presento más resultados en corto plazo fue el MRS.

Dentro de las primeras 24 y 48 horas, el medio MRS obtuvo mayor cantidad de resultados que el medio LBS. Debido a esto último, se determinó que el tiempo más representativo para discutir y analizar los resultados, fue el de 48 horas, ya que contiene mayor cantidad de positividad en sus resultados.

Se debe considerar que en el medio MRS se pueden desarrollar lactobacilos y una gran variedad de bacterias ácido lácticas. Este contiene proteasa peptona, extracto de levadura y glucosa, los cuales son una gran fuente nutritiva. Por otro lado el Monoleato de sorbitan y las sales de sodio, magnesio y manganeso, aportan cofactores de crecimiento bacteriano. El rol del acetato de sodio y el fosfato dipotasico es mantener el pH a niveles bajos (contribución inhibitoria de otros microorganismos). Por último el citrato de amonio presente en la solución inhibe el crecimiento de bacterias gram negativo (De man et al, 1960).

Por su parte el medio LBS, es un medio semi-definido parcialmente selectivo para el aislamiento y recuento de lactobacilos orales y fecales. En general, este medio previene el desarrollo de mohos y estreptococos (Rogosa et al, 2003). Se encuentra conformada por extracto de levadura y sal de amonio,

los cuales contribuyen el nitrógeno. De igual modo que en el medio MRS, el manganeso y magnesio son factores de crecimiento. Por otro lado la glucosa presente en este, proporciona la energía y el carbono. El citrato de amonio, el acetato de sodio y el sulfato ferroso actúan como inhibidores de estreptococos y otros organismos, debido a que proporcionan condiciones bajas de pH, que es tolerado principalmente por los lactobacilos (Rogosa et al,2003).

A pesar de que ambos medios contienen sales de magnesio, manganeso, glucosa y extracto de levadura, los cuales contribuyen al crecimiento bacteriano. Esta diferencia podría ser explicada por la falta de la proteasa peptona y el Monoleato sorbiten en el medio LBS. Mientras que el medio MRS si posee estos componentes y de acuerdo a varios estudios pueden llegar a influenciar bastante en el crecimiento de las bacterias.

Se debe tener en cuenta que el Monoleato sorbiten, es utilizado en el proceso de biodegradación del petróleo. De hecho a mayor concentración de este, mejor es el índice de biodegradación (Periche y Robles, 2016).

Por otro lado otro estudio afirma que la proteasa peptona contribuye en el crecimiento de las bacterias lácticas como en el caso de la cepa láctica *Carnobacterium piscícola*. (Antiman, 2008).

Basado en los resultados obtenidos y debido a que en menor tiempo el medio de cultivo MRS, entrego resultados positivos eficazmente, se discutirá los resultados asociados al medio MRS. Es importante mencionar que las figuras que se presentaran desde este punto, estarán relacionadas netamente con los resultados obtenidos en laboratorio antártico.

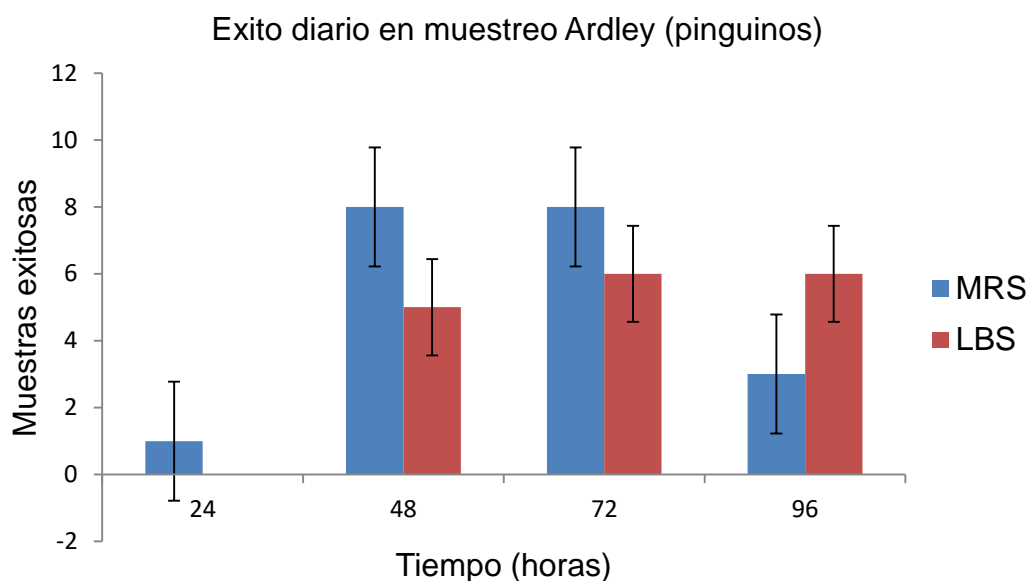


Figura 6. Resultados diarios de las muestras de pingüinos exitosas en cada medio de cultivo.

Se puede observar que el medio MRS presento positividad desde el primer día, mientras que el LBS desde el segundo. Esto último se vio representado en la ventaja de 24 horas entre el medio MRS con el medio LBS, ya que el primero obtuvo sus mejores resultados entre las 48 y 72 horas, mientras que el LBS los obtuvo entre las 72 y 96 horas. Esto se podría explicar por lo mencionado anteriormente. El medio MRS, contiene algunos compuestos como la proteasa peptona y el Monoleato sorbiten, que contribuyen

notablemente al crecimiento bacteriano. Además el medio MRS puede abarcar mayor cantidad y variedades de bacterias lácticas, por lo que encontrar resultados positivos en este medio es más fácil que en el LBS, el cual solo sirve para el desarrollo de lactobacilos.

Se destaca de la figura 6 que los mejores tiempos están asociados entre 48 y 72 horas.

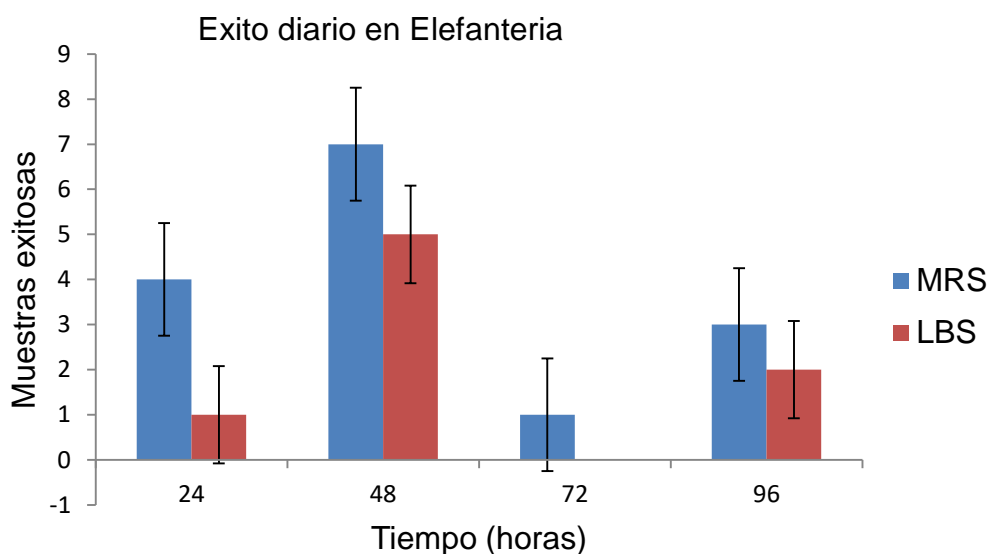


Figura 7. Resultados diarios de las muestras ambientales (elefanteria) exitosas en cada medio de cultivo.

De igual modo que en las muestras de pingüinos, el medio MRS entrego resultados ventajosamente desde el primer día, comparado con el medio LBS. Aun así se puede observar que en el tercer día sufre una caída bastante alta de muestras. Esto se puede explicar porque a diferencia de las muestras de pingüinos, la temperatura de incubación fue muy similar con

respecto a la temperatura interna de estos animales. Mientras que la temperatura de las muestras ambientales no fue exactamente la misma en relación a la de incubación. De acuerdo a la evidencia, la fase de latencia de las bacterias puede verse comprometida, si previamente no pasan por un proceso de adaptación con respecto a las condiciones de incubación (Devlieghere et al, 2001).

Se debe considerar que las muestras ambientales de la figura 7 corresponden a excrementos de elefantes marinos, lobos marinos y focas principalmente (tabla 3). Las condiciones climáticas y físicas de estas muestras no fueron óptimas. De hecho la región se caracterizaba por ser zonas con poca vegetación, por lo que se podría suponer que los suelos eran pobres en nutrientes. Además de acuerdo a la evidencia, los suelos de la Antártida en general contienen bajos niveles de carbohidratos, los cuales son vitales para las bacterias lácticas y su desarrollo. Esto último podría ser un factor que provocara variaciones de positividad a lo largo de los días de estudio (Bockheim, 1987).

Se destaca en la figura 7 que el mejor tiempo es únicamente el de 48 horas. A diferencia de lo que se observa en la figura 6.

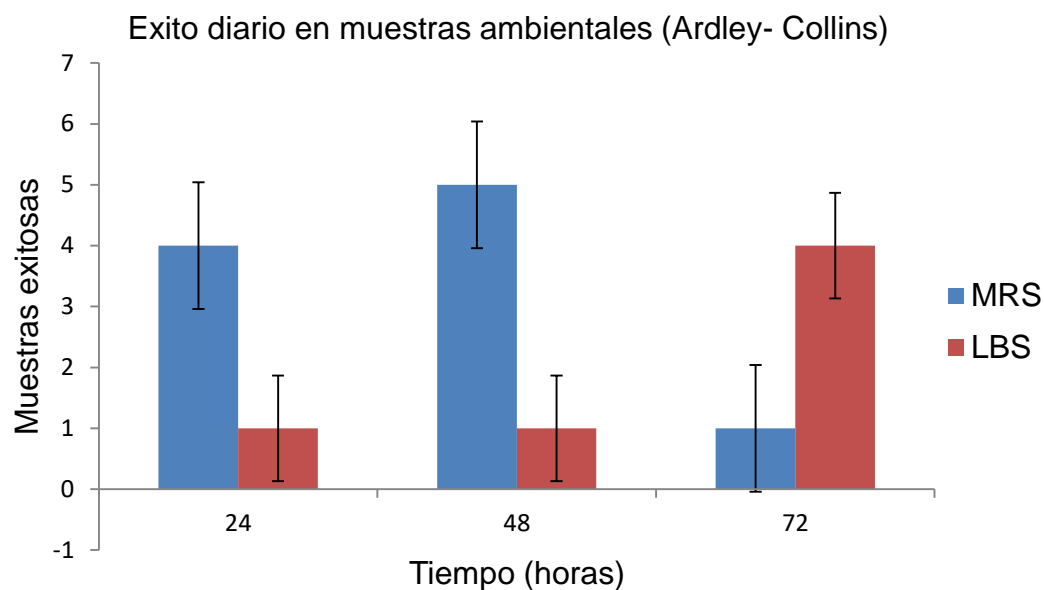


Figura 8. Resultados diarios de las muestras ambientales (Ardley- Collins) exitosas en cada medio de cultivo.

Se puede observar que el medio MRS fue más eficiente en entregar resultados desde el primer día, a diferencia del LBS. También se le atribuye a la presencia de proteasa peptona y el Monoleato sorbiten en el medio MRS. Aun así se puede observar de igual modo que en la figura 7, un descenso abrupto en el medio MRS en el tercer día. Esto también se ve explicado del mismo modo que en la figura anterior. En primer lugar por la falta de un proceso adaptativo para las bacterias (referido a la variación de temperatura de exposición vs la de incubación), comprometiéndose la fase de latencia de estas (Devlieghere et al, 2001). En segundo lugar, las muestras ambientales obtenidas en Ardley y Collins tampoco eran condicionadas por un microclima aportado por un ser vivo, sino que estaban sujetas al clima y las condiciones físicas del ambiente. En ese contexto, las

bacterias de tales muestras estuvieron expuestas a suelos con poca materia orgánica (carbohidratos necesarios para su desarrollo) y a temperaturas bastante bajas (Bockheim, 1987).

Al igual que en las figuras 6 y 7, el mejor tiempo en la figura 8 corresponde al de 48 horas.

4.4 Resultados en el medio biótico y abiótico antártico

Muestras (MRS antárticas) del medio Biotico y Abiotico

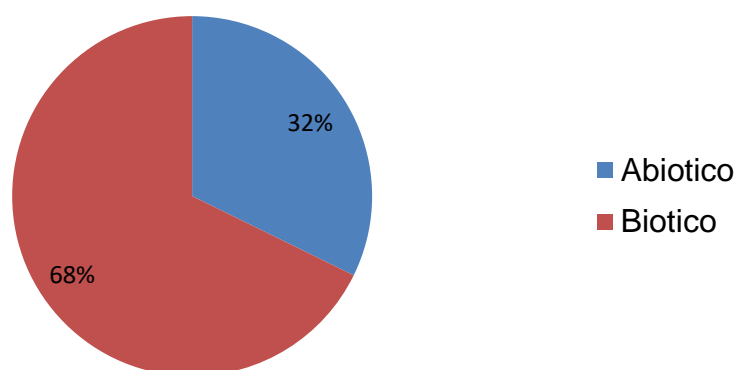


Figura 9. Distribución de las cepas cultivadas en MRS, con respecto al medio biótico y abiótico. Obtenidas en laboratorio antártico.

Los resultados entregaron una alta cantidad de bacterias ácido lácticas presentes en el medio biótico (entiéndase por medio biótico con muestras directamente obtenidas de pingüinos, peces y vegetales).

En el medio biótico las bacterias lácticas son casi el doble en cantidad que en el medio abiótico. Esto se puede deber (como se ha explicado anteriormente) ya que la evidencia demuestra que la temperatura óptima para el crecimiento de estas bacterias vendría siendo el rango de los 30-40 °C (Jay, 2000). Esto último concuerda con la temperatura interna que pueden alcanzar los pingüinos, considerando que gran porcentaje del medio biótico, corresponde a las muestras de pingüinos.

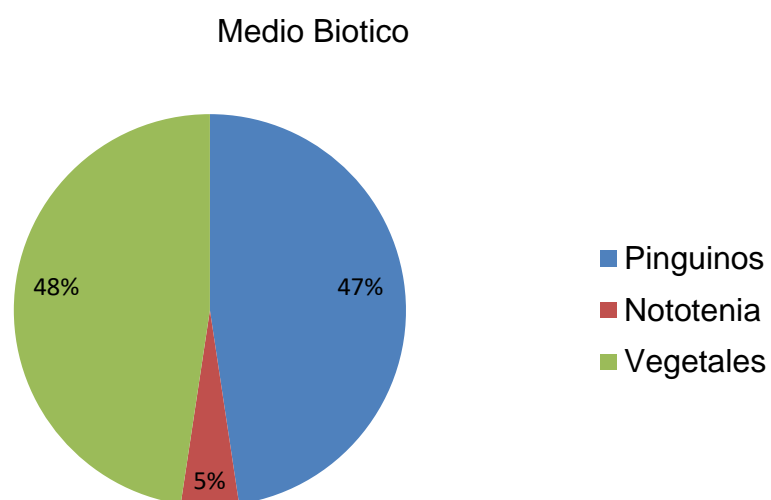


Figura 10. Diferentes biotas en donde se encontraron bacterias ácido Lácticas (cultivadas en medio MRS). Obtenidas en laboratorio antártico.

Con respecto a la distribución de las muestras en la matriz biótica los principales medios de desarrollo de las BAL, fueron los pingüinos y las plantas (musgos y líquenes). Y por último lugar los peces. Esto implica que el

medio acuático ha tenido baja intervención para permitir la llegada de estas bacterias a la Antártida, lo cual probablemente sea por las bajas temperaturas alcanzadas en estas.

El caso de los pingüinos, la cantidad obtenida se atribuye nuevamente a las condiciones de temperatura que son más favorables para las BAL.

Con respecto a las plantas, no existe mucha evidencia que permita demostrar algún nexo entre las bacterias lácticas y su desarrollo en ellas. Aun así, el constante flujo de estas bacterias a través de las redes tróficas puede ser un factor no menos importante, ya que como se podrá ver en la figura 11 los residuos de animales (excrementos), entregaron una alta positividad de estas bacterias. Otro factor que pudo influenciar la alta positividad de bacterias lácticas en muestras asociadas a plantas, es la alta concentración de estas bacterias que aportan los residuos animales (figura 11). Ya que la materia orgánica de los suelos es crucial para el desarrollo de estas plantas.

Tabla 4. Éxito alcanzado en pingüinos por cada tipo de muestra con medio de cultivo MRS.

	Alita	Cloacal	Oral	Fecal
Adelia	0	2	3	0
Papua	1	2	0	0
Barbijo	2	2	4	1

La tabla 4 muestra el total de muestras obtenidas con medio MRS de BAL en pingüinos. Es importante mencionar que el total de muestras totales por cada pingüino fueron bastante homogéneas, pero en el caso de los pingüinos adelia y papua, se priorizo a especies adultas. Mientras que en los pingüinos barbijos, también se contabilizo a crías.

Para el caso de los pingüinos adelia, difícilmente se podrían encontrar resultados de muestras fecales ya que durante su estadía en el continente (nidificación y reproducción), ayuna. Se debe considerar que la principal fuente de alimentación de los pingüinos antárticos, es el kirll y gran parte del tiempo de caza están buceando a profundidades entre los 20 a 100 metros, por lo que también es factible considerar el hecho de que estos liberen sus residuos fecales estando en agua. De hecho el único resultado obtenido de muestra fecal, fue de una cria barbijo (Instituto antártico, 2018).

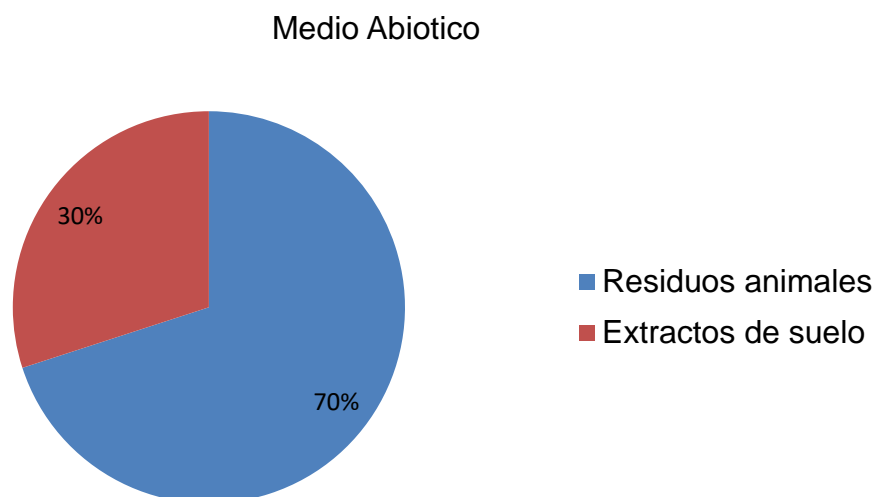


Figura 11. Medios abióticos en donde se desarrollaron bacterias ácido lácticas (cultivadas en medio MRS). Obtenidas en laboratorio antártico.

Los residuos animales corresponden a muestras recogidas de excrementos frescos, recién liberados por animales. Se puede visualizar una predominancia en la positividad en los residuos animales. Considerando además que en los resultados los pingüinos entregan una alta positividad de bacterias lácticas y que estos tienen relaciones tróficas del tipo presa-depredador con variadas especies como el lobo marino, foca leopardo, entre otros (Casaux, 2009; Rogers, 2009). Es muy probable que a medida que pase el tiempo, las BAL se concentren y queden con mayor frecuencia expuestas en los suelos ya que serán liberadas a través de los residuos de los animales que depreden a los pingüinos. Hasta el momento los resultados indican que las BAL encontradas, han podido resistir el estrés térmico otorgado por las condiciones climáticas de la Antártida y además debido a lo anterior recién explicado, existe la posibilidad de que estas se ajusten aún

más a las condiciones climáticas de la Antártida ya que su exposición podría estar aumentando en este tipo de climas, debido a las redes tróficas del ecosistema antártico.

Muestras (continentales MRS) del medio Biotico y Abiotico

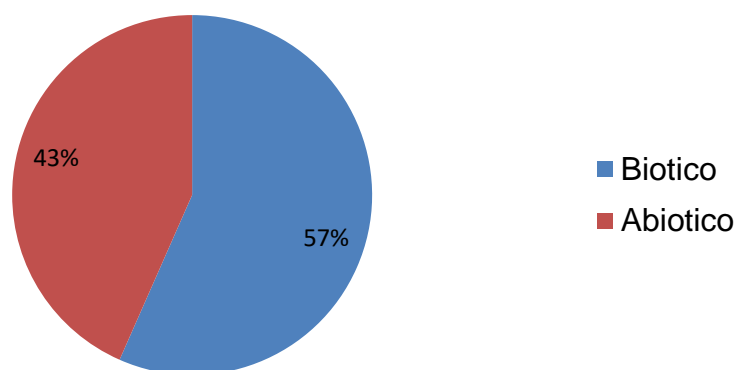


Figura 12. Distribución de las cepas cultivadas en MRS, con respecto al medio biótico y abiótico. Obtenidas en laboratorio continental.

Las bacterias que dieron positivas en los laboratorios antárticos, se llevaron al continente y se activaron nuevamente en el laboratorio hidroambiental de la universidad de concepción. Como se puede apreciar en la figura 12, los resultados fueron similares a los de los laboratorios antárticos. Por lo tanto se asumirá que no hay diferencias entre ambas activaciones.

4.5 Resultados morfológicos con muestras continentales

Las bacterias ácido lácticas tienen morfología asociada a bacilos, cocos y cocobacilos (Thokchom y Joshi. 2012). En relación a los datos analizados en el laboratorio continental, se extrajeron fotografías de las muestras y en base a ello se clasificaron según la morfología registrada. En las figuras 13 y 14 se observará la distribución morfológica según el medio biótico y abiótico de las muestras.

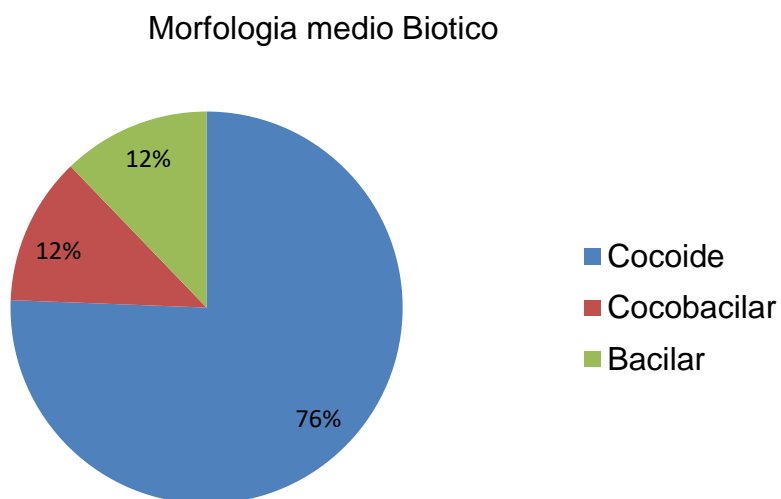


Figura 13. Distribución morfológica de las bacterias ácido lácticas en el medio biótico.

Se puede visualizar que dentro del medio biótico, predominaron las BAL coccoide con un 76%, siguiéndole los bacilos y cocobacilar con un 12% cada uno.

Las bacterias ácido lácticas están compuestas por alrededor de 20 géneros de los cuales los más incidentes en alimentos humanos son de morfología cocoide (Axelsson L, 2004).

Por otro lado la causa de la llegada de estas bacterias a esta región del planeta se debería por la actividad humana con fines turísticos y científicos. Posteriormente serían liberadas en los desechos humanos. Ya hay evidencia de otras bacterias en la flora y fauna antártica (González et al, 2013). Esto último explicaría el gran porcentaje asociado a la morfología cocoide, ya que son utilizados en gran cantidad para alimentos humanos.

Dentro de las agrupaciones de BAL usadas en alimentos humanos, estaría el género de *Carnobacterium*. Son organismos cocobacilares y psicrófilos ya que pueden crecer a temperaturas cercanas a los 0 °C, mientras que a 45 °C difícilmente crece. Debido a esto, este género en particular es potencialmente capaz de habitar esta región del planeta (Estaña, 2016). La principal causa asociada al porcentaje obtenido de cocobacilos en el medio biótico (12%), se debe a que la mayoría de BAL usadas en alimentos humanos es de morfología cocoide. Asumiendo que la llegada de personas es la razón de la presencia de estas bacterias en la Antártida.

En relación a los resultados obtenidos en el medio biótico con la morfología bacilar (12%). Nuevamente se asocia por la predominancia morfológica de

cocos en los alimentos humanos, considerando que la llegada de estos a la Antártida como la principal causa de su presencia.

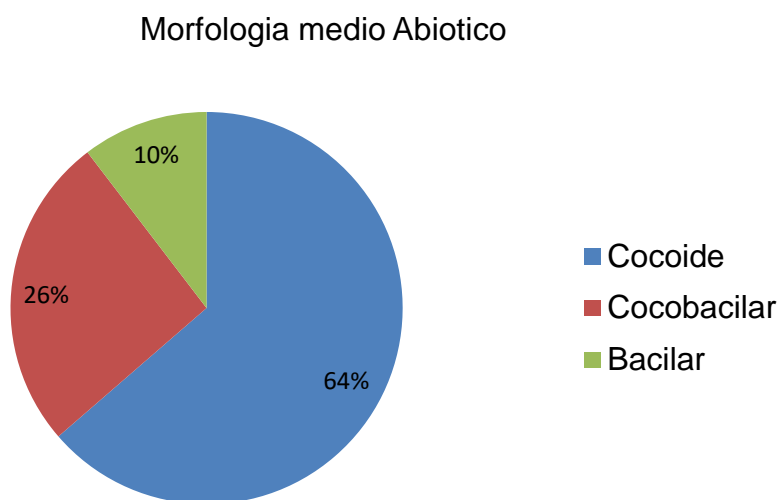


Figura 14. Distribución morfológica de las bacterias ácido lácticas en el medio abiótico.

Igual que en el medio biótico, es notable una predominancia en las BAL cocoides. En el caso de las cocobacilar, el porcentaje se duplico comparado con la figura 13. Mientras que las BAL bacilos dieron un valor similar que en el medio biótico.

En relación a la morfología cocoidal, no hay variación destacable entre los medios bióticos y abióticos. Es importante considerar que los pingüinos dieron alta positividad de bacterias lácticas (figura 10). Además son depredados por variadas especies (Casaux, 2009; Rogers, 2009). Por otro lado la morfología cocoide es predominante dentro de todas las BAL utilizadas para alimentos humanos (Axelsson L, 2004). Por lo tanto su

presencia en el medio abiótico es bastante predecible considerando además la llegada del humano como un canal para que estas bacterias lleguen al ecosistema antártico y finalmente puedan interactuar mediante las redes tróficas.

En el caso de las bacterias del tipo cocobacilo, se puede ver un aumento significativo en el medio abiótico (26 %). Esto se puede ver explicado debido a lo anteriormente mencionado en el caso del medio biótico. El género *Carnobacterium*, es uno de los pocos géneros de morfología cocobacilar dentro de las BAL utilizadas en alimentos humanos. Este es reconocido por ser psicrófilo por lo que en las condiciones climáticas de la Antártida a diferencia de otros géneros de BAL, tiene mayores probabilidades de crecer y esto explicaría porque en el medio abiótico aumento su porcentaje. (Estaña, 2016).

Asociado a las bacterias del tipo bacilo, en el medio abiótico no sufrieron cambios significativos (10%), comparado con el medio biótico. Asumiendo que el principal factor de llegada de estas BAL es la alimentación que utilizan los turistas y científicos, que posteriormente es depositada y liberada al ecosistema antártico. Y que además dentro de las BAL usadas esta morfología no es la predominante. No es ninguna sorpresa que este circulando escasamente entre los medios bióticos y abióticos, los cuales si interactúan considerablemente por lo que se ha podido ver en el caso de la morfología cocoide.

Entre los géneros de BAL con morfología bacilo usados en la alimentación humana, estarían los *Lactobacillus*, estos principalmente son organismos mesofilos, creciendo entre los 2 y 53 °C (Samaniego y Sosa del Castillo, 2000). Por lo que este último rasgo ya los estaría descartando para tener niveles óptimos de crecimiento en los ecosistemas antárticos. Aun así de acuerdo a la información meteorológica de la tabla 2. Las temperaturas medias de enero y febrero, fueron 2,2 y 2,3 °C, permitiendo esto último cierta posibilidad de crecimiento para estas bacterias durante esas épocas del año.

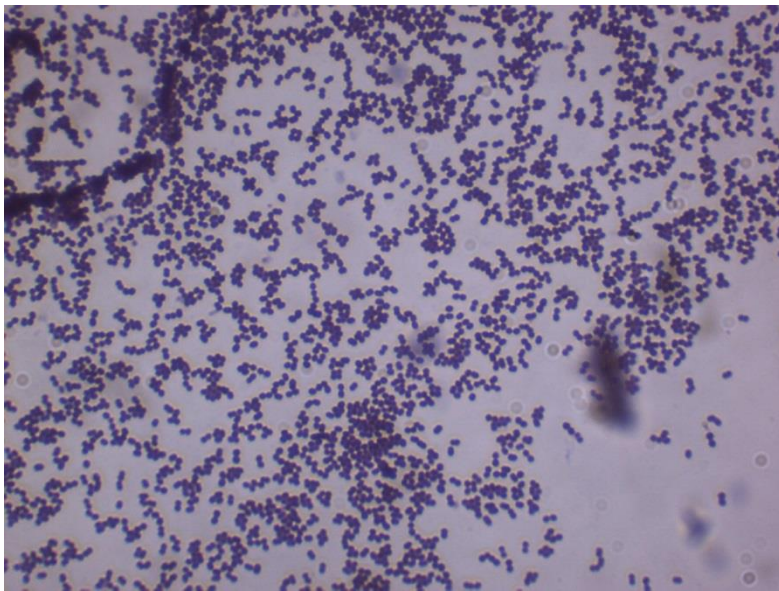


Figura 15. Bacterias ácido lácticas de morfología cocoide obtenida de muestras antárticas.



Figura 16. Bacterias ácido lácticas de morfología cocobacilar obtenida de muestras antárticas.

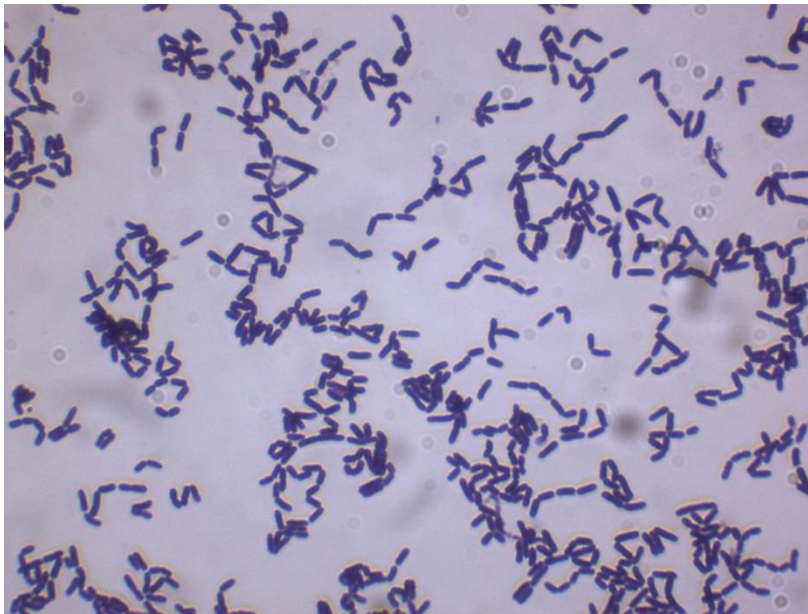


Figura 17. Bacterias ácido lácticas de morfología bacilar obtenida de muestras antárticas.

5. CONCLUSION

La Antártida es una región del planeta cuyas condiciones climáticas y ecológicas han modificado a toda la vida perteneciente en ella. Debido a que durante todo el año alcanza temperaturas inferiores los 0°C, variados niveles de espesor de nieve y altas velocidades de vientos. Factores que no son tan constantes durante todo el año en el resto del planeta.

Las BAL encontradas dependen en gran parte de la presencia de materia orgánica para fermentar hidratos de carbono. Dentro de las que se encontraron existe alta variedad ya que dentro de los dos medios de cultivos utilizados, el más exitoso fue el MRS. El cual está orientado para el cultivo de una gran variedad de bacterias lácticas. Además se encontró 3 tipos de morfologías; cocoide, bacilo y cocobacilo.

Muchas de las muestras ambientales encontradas fueron en zonas como acantilados, bastante lejanos de las bases científicas. También se localizaron en regiones con cierto nivel de vegetación en los suelos. Otro grupo de muestras, fueron obtenidas en las zonas costeras de la isla Ardley. Ante tal distribución, se asoció la llegada del ser humano como una de las principales causas de la presencia de estas bacterias en la Antártida y como estos han expuesto a las BAL a la flora y fauna antártica.

6. REFERENCIAS

1. Acosta, H. 2005. Los pingüinos, grandes buceadores. Museo 3(19): 63-66.
2. Ali, P., S. Ali, F. Hasan, N. Hertkorn, M. Gonsior, W. Sajjad and F. Chen. 2020. A glacier bacterium produces high yield of cryoprotective exopolysaccharide [en línea]. Front. Microbiol. 10: 3096 (Art. N°) <doi.org/10.3389.2019.03096/fmicb>. [Consulta: 03 enero 2021].
3. Antiman, P. 2008. Diseño de un medio de cultivo económico y alternativo para la producción de una sustancia tipo bacteriocina inhibitoria de *Listeria monocytogenes*. Fase II, ajuste de las fuentes de carbono y de micronutrientes. Memoria de título, Ingeniero en Alimentos. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, Chile.
4. Arribas, B., M.E Rodríguez-Cabezas, M. Comalada, E. Bailon, D. Camuesco, M. Olivares, J. Xaus, A. Zarzuelo and J. Gálvez. 2009. Evaluation of the preventative effects exerted by *Lactobacillus fermentum* in an experimental model of septic shock induced in mice. Br. J. Nutr. 101(1): 51–58.
5. Axelsson, L., T. Katla, M. Bjornslett, V.G.H. Eijsink and A. Holck. 2006. A system for heterologous expression of bacteriocins in *Lactobacillus sake*. FEMS (Fed. Eur. Microbiol. Soc.) Microbiol. Lett. 168(1): 137–143.
6. Bockheim, J. 1987. Antarctic soils and climate change. pp: 305-313. In: The soils of Antarctica. Springer. Madison, USA.
7. Bourdichon, F., S. Casaregola, C. Farrokh, J.C. Frisvad, M.L. Gerds, W.P.

- Hammes, J. Harnett, G. Huys, S. Laulund and A. Ouwehand. 2012. Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use. *Int. J. Food Microbiol.* 154(3): 87-97.
8. Cárdenas, N., J. Calzada, A. Peirotén, E. Jiménez, R. Escudero, J.M. Rodríguez, M. Medina and L. Fernández. 2014. Development of a potential probiotic fresh cheese using two *Lactobacillus salivarius* strains isolated from human milk [en línea]. *BioMed Res. Int.* <doi.org/10.1155/2014/801918>. [Consulta: 02 febrero 2022].
9. Carr, F.J., D. Chill and N. Maida. 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Crit. Rev. Microbiol.* 28(4): 281–370.
10. Casaux, R, A. Baroni, A. Ramón, A. Carlini, M. Bertolin and C.Y. DiPrinzio. 2009. Diet of the Leopard Seal *Hydrurga leptonyx* at the Danco Coast, Antarctic Peninsula. *Polar Biol.* 2 (32): 307–310.
11. Convey, P. 2011. Antarctic terrestrial biodiversity in a changing world. *Polar Biol.* 34(11): 1629-1641.
12. Convey, P. 2013. Antarctic ecosystems. pp: 179-188. In: S.A. Levin (Ed.). *Encyclopedia of biodiversity*. Vol I. (2nd. ed.). Elsevier. Cambridge, UK.
13. D'Amico, S., T. Collins, J.-C. Marx, G. Feller and C. Gerday. 2006. Psychrophilic microorganisms: challenges for life. *EMBO Rep.* 7(4): 385-389.
14. De Man, J.C., M. Rogosa and M.E. Sharpe. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. B Microbiol.* 23(1): 130-135.
15. Deming, J.W. 2002. Psychophiles and polar regions. *Curr. Opin.*

- Microbiol. 5(3): 301-309.
16. Devlieghere, A.H., K.J. Geeraerd, B. Versyck, J. Vandewaetere and J. Debevere. 2001. Growth of *Listeria monocytogenes* in modified atmosphere packed cooked meat products: A predictive model. *Int. J. Food Microbiol.* 18(1): 53-66.
17. De Vos, P., G. Garrity, D. Jones, N.R. Krieg, W. Ludwig, F.A. Rainey, K.-H. Schleifer and W.B. Whitman. 2009. The firmicutes. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*. (3rd. ed.). Springer. New York, USA.
18. Domínguez, Y. 2008. Bacterias antárticas y agentes antibacterianos. pp: 4-5. *Boletín Antártico Chileno N°2*. Instituto Antártico Chileno. Punta Arenas, Chile.
19. Forcada, J. 2007. El cambio climático y sus repercusiones para la megafauna antártica. pp: 85-112. *Impactos del Calentamiento Global sobre los Ecosistemas Polares N°3*. Consejo Nacional de Investigaciones Medioambientales. Cambridge, UK.
20. Gesheva, V., E. Vasileva-Tonkova. 2012. Production of enzymes and antimicrobial compounds by halophilic Antarctic *Nocardioides* sp. grown on different carbon sources. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28(5): 2069-2076.
21. Giese, M. 1996. Effects of human activity on adeliae penguin *Pygoscelis adeliae* breeding success. *Biol. Conserv.* 75(2): 157-164.
22. Gómez, J.C. 1943. Elementos de humedad atmosférica. *Bull. Amb. Meteor. Soc.* 24(2): 60-61.
23. González-Acuña, D., J. Hernández, L. Moreno, B. Herrmann, R. Palma,

- A. Latorre, G. Medina-Vogel, M.J. Kinsella, N. Martín, K. Araya, I. Torres, N. Fernández and B. Olsen. 2013. Health evaluation of wild gentoo penguins (*Pygoscelis papua*) in the Antarctic Peninsula. *Polar Biol.* 36(12): 1749–1760.
24. Hayes, M., C. Stanton, G.F. Fitzgerald and R.P. Ross. 2007. Putting microbes to work: dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part II: bioactive peptide functions. *Biotechnol. J.* 2(4): 435-449.
25. Hunter, S. and M. De L. Brooke. 1992. The Diet of giant petrels *Macronectes* spp. at Marion Island, Southern Indian Ocean. *Col. Waterbirds.* 15(1): 56–65.
26. Instituto Antártico Chileno. 2018. Los pingüinos antárticos [en línea]. Instituto Antártico Chileno. <<https://www.inach.cl/inach/wp-content/uploads/2017/11/PINGUINOS-3-L.pdf>>. [Consulta: 04 febrero 2022].
27. Izaguirre, I., G. Mataloni. 2000. Aspectos geográficos y climáticos. pp: 15-16. En: Descubriendo el continente blanco. Del Nuevo Extremo Antártida. Buenos Aires, Argentina.
28. Jack, A., L. Peter and J. Laybourn-Parry. 2005. A hyperactive, Ca²⁺-dependent antifreeze protein in an Antarctic bacterium, *FEMS (Fed. Eur. Microbiol. Soc.) Microbiol. Lett.* 245(1): 67–72.
29. Jay, J.M., M.J. Loessner and D.A. Golden. 2005. Modern food microbiology. (7th. ed.). Springer. New York, USA.
30. Klein, G., A. Pack, C. Bonaparte and G. Reuter. 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 41(2): 103–125.

31. Madigan, M.T., J.M. Martinko and J. Parker. 2004. Brock. Biología de los Microorganismos. (10a. ed). Prentice Hall-Pearson Education. Madrid, España.
32. Mamani, D. 2016. Evidencia de *Piscirickettsia salmonis* y *Yersinia ruckeri* en truchas arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) en cultivo de balsa jaula en el Lago Titicaca en el Distrito de Pomata Departamento de Puno (Perú). Tesis, Magíster en Ciencias de la Acuicultura. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile.
33. Mayewski, P., M. Meredith, C. Sumerhayes, J. Tuner, A. Worby, P. Barret. G. Casassa, N. Bertler, T. Bracegirdle, A. Naveira Garabato, D. Bromwich, H. Campbell, G. Hamilton, W. Lyons, K. Maasch, S. Aoki and C. Xiao. 2009. State of the Antarctic and southern ocean climate system [en línea]. Rev. Geophys. 47(1). <doi.org/10.1029/2007RG000231>. [Consulta: 03 junio 2020].
34. Morita, R.Y. 1975. Psychrophilic bacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 39(2): 144–167.
35. Nicolaus, B., M. Kambourova and E.T. Oner, 2010. Exopolysaccharides from extremophiles: from fundamentals to biotechnology. Environ. Technol. 31(10): 1145-1158.
36. Nievas, F. G. Leotta and G. Vigo. 2007. Subcutaneous clostridial infection in Adelie penguins in Hope Bay, Antarctica. Polar Biol. 30(2): 249-252.
37. Ogier, J.C., P. Serror. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms:

- The Enterococcus genus. *Int. J. Food Microbiol.* 126(3): 291–301.
38. Oszcewski, R.J., M. Bluestein. 2005. The new wind chill equivalent temperature chart. *Bull. Am. Meteorol. Soc.* 86(10): 1453-1458.
39. Periche, D., H. Robles. 2016. Effect of the concentrations of surfactant Polyoxyethylene (20) Sorbitan monooleate "Tween 80" on Diesel II oil biodegradation in soil by *Pseudomonas aeruginosa*. *Rebiol* 36(1): 10-18.
40. Poli, A., G. Anzelmo and B. Nicolaus. 2010. Bacterial exopolysaccharides from extreme marine habitats: Production, characterization and biological activities. *Mar. Drugs* 8(6): 1779-1802.
41. Robinson, C.H. 2001. Cold adaptation in Arctic and Antarctic fungi. *New Phytol.* 152(2): 341-353.
42. Rogers, T.L. 2009. Leopard seal: *Hydrurga leptonyx*. pp: 673-674. In: W. Bernd, W.F. Perrin and J.G.M.H. Thewissen (Eds.). *Encyclopedia of marine mammals*. (2nd. ed). Academic Press. New York, USA.
43. Rogosa, M., J.A. Mitchell and R.E. Wiseman. 1951. A selective medium for the isolation of oral and faecal Lactobacilli. *J. Bacteriol.* 62(1): 132-133.
44. Ruas-Madiedo, P., J. Hugenholtz and P. Zoon. 2002. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 1(2): 163-171.
45. Ruiz-Rodríguez, L., J. Bleckwedel, M. Eugenia, M. Pescuma and F. Mozzi. 2017. Lactic acid bacteria. pp: 395-451. In: C. Wittmann and J. Liao. (Eds.). *Industrial biotechnology: Microorganisms*. Wiley-VCH. Weinheim, Germany.

46. Samaniego, F.L.M., C.M. Sosa. 2000. *Lactobacillus* spp: Importantes promotores de actividad probiotica, antimicrobiana y bioconservadora. Universitaria. La Habana, Cuba.
47. Scilingo, A., B. Francisco, B. Howard, O. Thieusies, M. Mora, E. Gajardo, L. Escudero, P. Charpentier, K. Asakai, Y. Shimoda, G.D.L. White, P. Koht, W.C. du Plessis, V.V. Kuznetsov, H. Caccia, H. Phleger y P.C. Daniels. 1959. Tratado antártico. Washington D.C., USA.
48. Stiles, M.E., W.H. Holzapfel. 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36(1): 1–29.
49. Thokchom, S., D.R. Joshi. 2012. Antibiotic resistance and probiotic properties of dominant lactic microflora from Tungrymbai, an ethnic fermented soybean food of India. *J. Microbiol.* 50(3): 535–539.
50. Turner, J., R. Blindschadler, P. Convey, G. Prisco, E. Fahrbach, J. Gutt, D. Hodgson, P. Mayewski and C. Summerhayes. 2009. Antarctic climate change and the environment. Scientific Committee on Antarctic Research. Cambridge, UK.
51. Von Wright, A., L. Axelsson. 2012. Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects. pp: 1–16. In: S. Lahtinen, A.C. Ouwehand, S. Salminen and A. von Wright (Eds.). *Lactic acid bacteria: an introduction*. (4th. ed.). CRC Press. Boca Raton, USA.
52. Walton, D.W.H. 2013. Antarctica: Global science from a frozen continent. *Arct. Antarct. Alp. Res.* 46(1): 286-287.

