

Efecto de la salinidad sobre el conteo de genes asociados a microorganismos de estrés ambiental en un manglar semiárido del departamento de la Guajira.

Hasbleidy Bonilla Amaya

Ensi Yaniari López Mosquera

Asesor externo PhD. Javier Vanegas Guerrero

Asesor interno. MSc. Sonia Marcela Rosas Arango



Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud Programa de
Bacteriología y Laboratorio Clínico

Bogotá D.C 2022



MANGLAR

Los manglares están sometidos a factores naturales como la salinidad, el pH, exposición a los rayos UV, estrés oxidativo y altas temperaturas.



FUNCIONES

- **Diversidad microbiana**
- **Regulación del clima**
- **Evita la erosión del suelo**
- **Protección de arrecifes coralinos**

Alongi,2002

DISTRIBUCIÓN





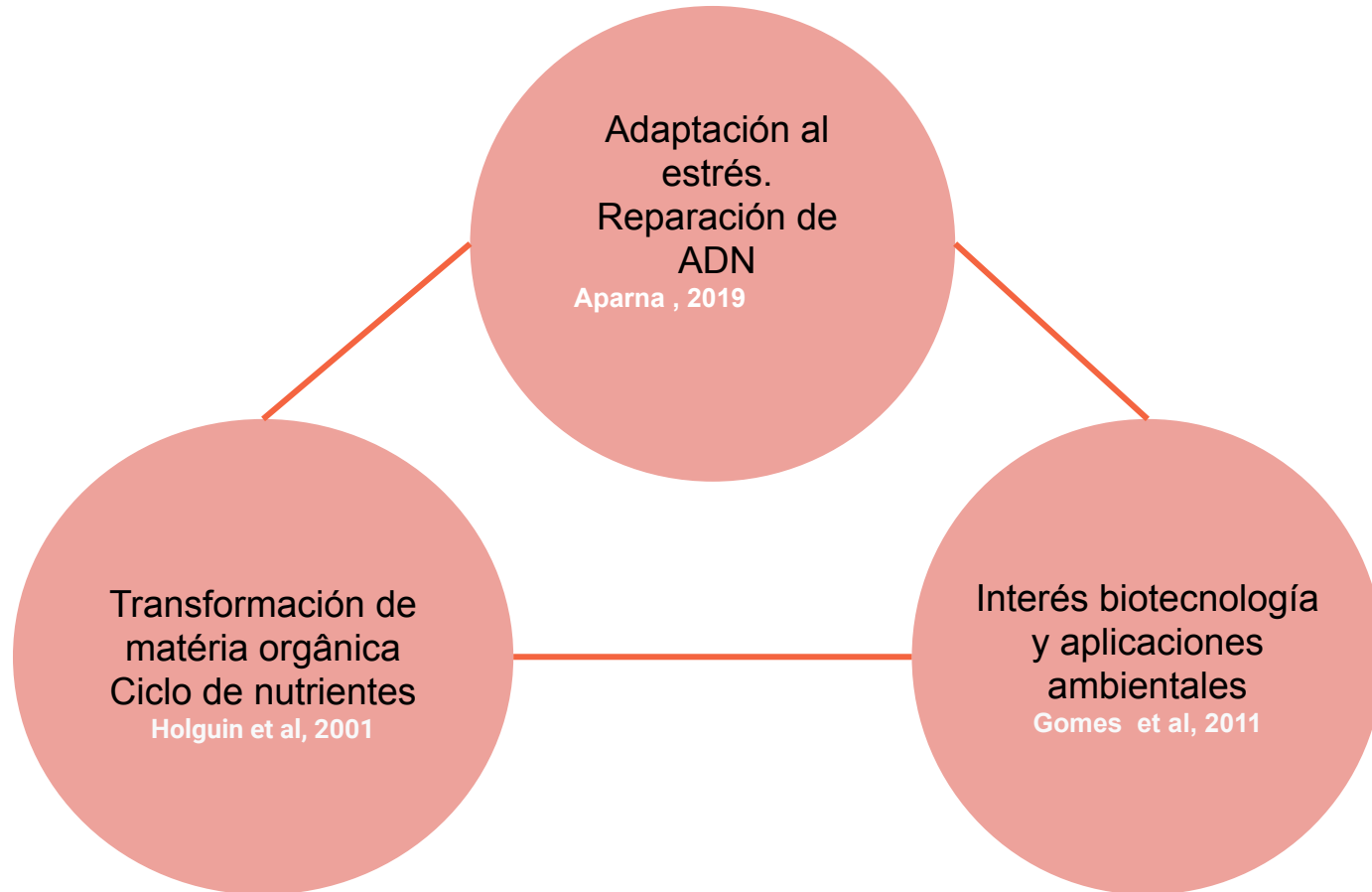
PROBLEMÁTICA

Degradación y pérdida
estimada en un 35% y
80%.

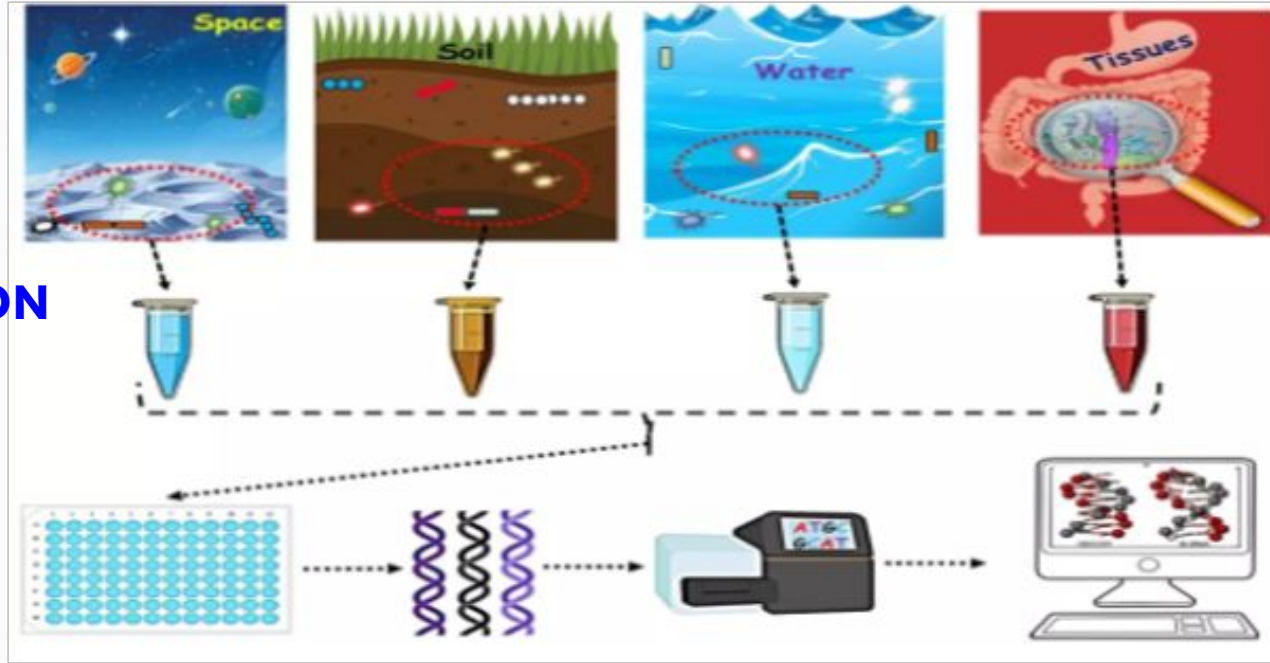
Contaminación
Derrame de petróleo
Metales pesados
Construcción de carreteras
Acuicultura

Kostner *et al.* 2015

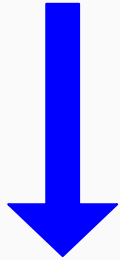
IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN LOS MANGLARES



METAGENÓMICA



**EXTRACCIÓN
DE ADN**



**PREPARACIÓN
DE LIBRERÍAS**

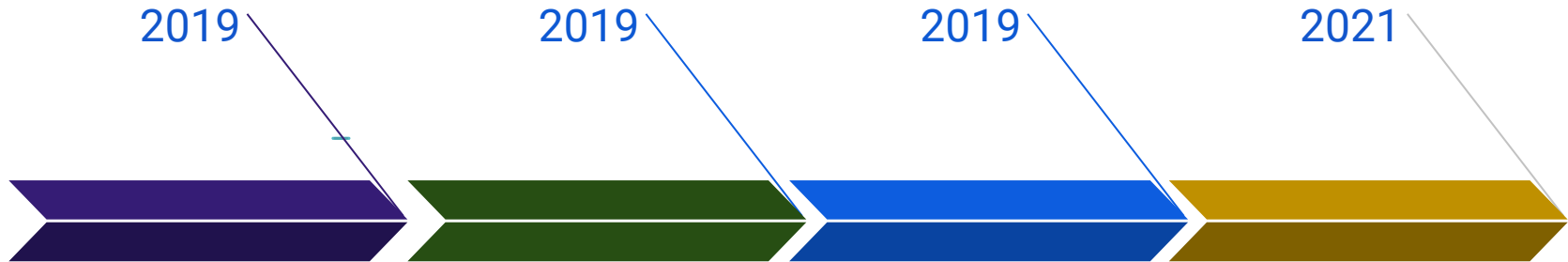


SECUENCIACIÓN



**ANÁLISIS
BIOINFORMÁTICO**

ANTECEDENTES



Andreote et al.

A través de la metagenómica se ha establecido la diversidad taxonómica y funcional de los microorganismos en diferentes manglares

Torres et al.

Microorganismos sensibles al estrés en los manglares podrían permitir el seguimiento del impacto de los factores externos.

Muñoz et al.

Los estudios de metagenómica en manglares se han centrado en los cambios taxonómicos

Llanes

Demostró por metagenómica las capacidades metabólicas de tolerancia al estrés en suelos rizosféricos de los manglares.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN?

¿Cuáles son las rutas y genes asociadas al estrés ambiental en microorganismos en un manglar bajo los diferentes niveles de salinidad?

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la salinidad sobre el conteo de genes asociados a estrés ambiental en microorganismos de un manglar semiárido del departamento de la Guajira.

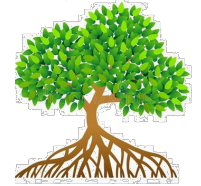
OBJETIVO ESPECÍFICOS

1. Identificar las rutas metabólicas asociadas al estrés ambiental en un manglar semiárido de la Guajira sometidos a tres niveles de salinidad.
2. Determinar los conteos y diferencias de genes de rutas metabólicas asociados al estrés ambiental sometidos a tres niveles de salinidad.

ANTECEDENTES METODOLÓGICOS



Alta 61,52 %



Media 14,61%



Baja 2,8 %



Figura 1. Mapa de ubicación, donde se encuentra el manglar en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira (Sepúlveda, 2021)

Muestras de suelo rizosférico de *Avicennia germinans* en los 3 niveles de salinidad.

ANTECEDENTES METODOLÓGICOS

SECUENCIACIÓN / Illumina Hiseq 2500



EVALUACIÓN DE CALIDAD / Fast Qc v. 0.11.2



LIMPIEZA / Trimmomatic v.0.36

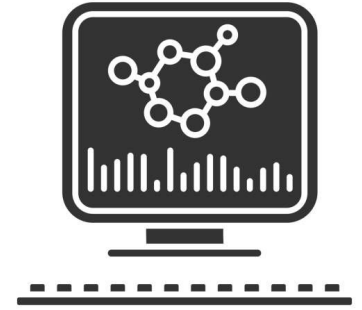


ALINEAMIENTO / DIAMOND (base de datos de proteínas NR de NCBI)



ANOTACIÓN / MEGAN 5.0 (KEGG)

ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO



Bioinformatics

METODOLOGÍA

Busqueda
de KO

METAGENÓMA



OBJETIVO 1



Explicacion especifica para el estudio.

Organización de datos

Microbiome Analyst

OBJETIVO 2

PLATAFORMA WEB

Una herramienta basada en la web para un meta análisis estadístico, visual y completo de los datos del microbioma



RESULTADOS

RUTA METABÓLICA	TIPOS ESTRES	% reads
Ruta transportadora ABC	Salinidad	27,5
Recombinación Homóloga	UV	13,4
Quorum sensing	Estres universal	10,5
Reparación escisión de nucleótidos	UV	10,4
Reparación de errores de emparejamiento de ADN (MMR)	UV	7,7
Base escisión de reparación (BER)	UV	6,5
Proteínas de choque térmico	T°	6,3
Respondedoras de estrés	Estres universal	6,3
Sistema Secreción bacteriana	Estrés biótico	5,8
Chaperonas	T°	2,7
Estrés salino	Salinidad	1,1
Oxidasa	Estres oxidativo	0,8
Superóxido dismutasa	Estres oxidativo	0,7
Unión de extremos no homólogos	UV	0,2
Esterasas	Estres oxidativo	0,2
Estrés universal	Estres universal	0,0

RUTA METABÓLICA	Salinidad			% reads	p values
	(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
Ruta transportadora ABC	2487,0	2204,6	2107,6	27,5	*
Recombinación Homóloga	1263,9	1059,1	987,1	13,4	*
Quorum sensing	925,9	846,2	813,0	10,5	*
Reparación escisión de nucleótidos	957,5	825,5	794,1	10,4	*
Reparación de errores de emparejamiento de ADN (MMR)	712	614,1	583,3	7,7	*
Base escisión de reparación (BER)	595,1	518,9	493,4	6,5	*
Proteínas de choque térmico	601,0	494,5	452,6	6,3	*
Respondedoras de estrés	582,0	503,9	462,9	6,3	*
Sistema Secreción bacteriana	526	449,0	446,0	5,8	**
Chaperonas	264,2	216,8	193,4	2,7	**
Estrés salino	101,2	90,1	85,6	1,1	**
Oxidasa	78,0	64,9	56,9	0,8	***
Superóxido dismutasa	58,4	51,9	54,4	0,7	***
Unión de extremos no homólogos	11,5	13,0	16,3	0,2	***
Esterasas	15,6	14,3	16,5	0,2	***
Estrés universal	0,5	0,3	0,3	0,0	(-)

RESULTADOS

Se seleccionaron 16 categorías metabólicas que responden a diferentes tensores ambientales y la cantidad de genes reportados en cada una.

Significado:***: < 0,001; **: p < 0,01; *: < 0.05. Las rutas metabólicas que no tienen diferencias significativas están marcadas con (-). Incluye las enzimas relacionadas, la función biológica, su identificación KEGG, p values.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

TRANSPORTADORES ABC

KEGG	Salinidad			Total	p values
	(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
K03695	182 (3%)	156 (2%)	140 (2%)	478 (7%)	***
K03924	143 (2%)	121 (2%)	105 (2%)	368 (5%)	***
K17686	104 (1%)	87 (127%)	79 (1%)	270 (4%)	***
K03696	90 (1%)	82 (1%)	64 (0.9%)	236 (3%)	***
K03553	84 (1%)	69 (1%)	66 (0.9%)	218 (3%)	***
	2487,0	2204,5	2107,6		

Contribuye a estabilizar estructuras subcelulares, membranas y proteínas (proVWX)

Transporte 49%, translocasas 21% y quinasas 5%
Conteo 23,10%. Salinidad alta

570/287 genes

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

TRANSPORTADORES ABC

KEGG	Salinidad			Total	p values
	(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
K03695	182 (3%)	156 (2%)	140 (2%)	478 (7%)	***
K03924	143 (2%)	121 (2%)	105 (2%)	368 (5%)	***
K17686	104 (1%)	87 (127%)	79 (1%)	270 (4%)	***
K03696	90 (1%)	82 (1%)	64 (0.9%)	236 (3%)	***
K03553	84 (1%)	69 (1%)	66 (0.9%)	218 (3%)	***
	2487,0	2204,5	2107,6		

Transporte de cationes
(copA, ctpA)

570/287 genes

QUORUM SENSING

KEGG	Salinidad			Total	p values
	(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
K03070	153 (6%)	125 (5%)	120 (5%)	399 (15%)	***
K02032	69 (3%)	67 (3%)	59 (2%)	195 (8%)	***
K03076	53 (2%)	46 (2%)	43 (2%)	142 (6%)	***
K01996	43 (2%)	46 (2%)	43 (2%)	132 (5%)	*
K02033	44 (2%)	41 (2%)	38 (1%)	124 (5%)	**
	926	846	813		

Transporte de proteínas secretoras (**SecA, secY**)

Transporte 34%, vías metabólicas 28%, sistema de dos componentes 12%, biosíntesis 21%
 Conteo 38.35% salinidad alta

110/ 67 genes

RECOMBINACIÓN HOMÓLOGA

KEGG	Salinidad			Total	p values
	(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
K03695	181 (14%)	156 (5%)	140 (4%)	478 (0.1%)	***
K17686	104 (8%)	87 (3%)	80 (2%)	270 (0.1%)	***
K03696	90 (7%)	82 (3%)	64 (2%)	236 (0.1%)	***
K03553	84 (6%)	69 (2%)	66 (2%)	218 (0.1%)	***
K02337	76 (6%)	63 (2%)	63 (2%)	202 (0.2%)	***
	1263,9	1059,1	987,1		

115/52 genes

División de la célula y
respuesta al estrés

recC

recD

recA

Replicación de ADN 25%,
asociación a unión al ADN 33%,
transferasas 23%, hidrolasas
31%, ADN polimerasa dirigida
por el ADN 21%

Conteo es de 36.34% de
salinidad alta.

REPARACIÓN ESCISIÓN DE BASES

KEGG	Salinidad			Total	p values
	(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
K03695	182 (11%)	156 (10%)	130 (9%)	478 (30%)	***
K03924	143 (9%)	121 (8%)	105 (7%)	368 (23%)	***
K02335	47 (3%)	40 (2%)	42 (3%)	130 (8%)	**
K03529	38 (2%)	36 (2%)	37(2%)	110 (7%)	*
K01972	27 (2%)	26 (2%)	26 (2%)	79 (5%)	**
	595,1	518,8	493,3		

Cumple función de reparación al daño del ADN

UNG-----enzima

Hidrolasas 76%, seguido de nucleasas 28%, ligasas 28%, y unión al ADN 28%.

Conteo 72.4% salinidad alta

128/25 genes

CONCLUSIÓN

1. Los conteos de genes asociados a estrés ambiental en la comunidad microbiana del manglar de la desembocadura del río Ranchería, evidencio que los altos conteos se encuentra asociada a los distintos tipos de salinidad , los cuales se pueden ver involucrados en diferentes rutas metabolicas como ruta transportadora ABC, recombinación homóloga, quorum sensing, NER, reparación de desajuste, Base escisión de reparación BER, respondedoras de estrés y proteínas de choque térmico que podría estar relacionado con los mecanismos de tolerancia y salinidad.

2. De todas rutas metabólicas la de mayor conteo fue la ruta transportadora ABC con un porcentaje de (27.5%), donde la marea influye en los puntos de mayor salinidad, ya que las sales se depositan allí y los de punto menor de salinidad se encuentran en contacto con el río.



GRACIAS

*"Cada logro comienza con la
decisión de intentarlo".*

Gail Devers.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ghosh A, Bhadury P. Insights into bacterioplankton community structure from Sundarbans mangrove ecoregion using Sanger and Illumina MiSeq sequencing approaches: A comparative analysis. Genomic Data [Internet]. 2017 [cited 26 enero 2022]; 11: 39-42. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213596016301672>
2. Abarca, S. C., Serrano, M. C., Bolívar-Anillo, H. J., Daza, D. A. V., Moreno, H. S., & Anfuso, G. Bosques de manglar del Caribe Norte Colombiano: Análisis, evolución y herramientas de gestión. Revista Latinoamericana de Recursos Naturales.[Internet]. (2020) [cited 27 abr 2021] 16(1), 31-54 Available in: <https://doi.org.1033154/rln.2020.01.04>
3. Alongi, D.. Estado actual y futuro de los manglares del mundo. Conservación del medio ambiente, 29 (3), 331-349. [Internet]. 2002 [cited 2021 NOV 08].Available in: [doi 10.1017 / S037689290200023](https://doi.org/10.1017/S037689290200023)
4. Cummings A.R,Shah M.Mangroves in the global climate and environmental mix.Wiley.[Internet].2017 [cited 8 oct 2021]. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/gec3.12353>

5. Sepúlveda-Correa, A., Daza-Giraldo, L. V., Polanía, J., Arenas, N. E., Muñoz-García, A., Sandoval-Figueredo, A. V., & Vanegas, J. (2021). Genes associated with antibiotic tolerance and synthesis of antimicrobial compounds in a mangrove with contrasting salinities. *Marine Pollution Bulletin*, 171, 112740. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112740>
6. Torres, G. G., Figueroa, I., Muñoz, A., Polanía, J., & Vanegas, J. (2019). Potential bacterial bioindicators of urban pollution in mangroves. *Environmental Pollution*, 113293. Factor de impacto 5.714 (2018) (199261212). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113293>
7. Andrea Muñoz-García, Orson Mestanza, Juan Pablo Isaza, Ingrid Figueroa-Galvis, Javier Vanegas 2019. Influence of salinity on the degradation of xenobiotic compounds in rhizospheric mangrove soil. *Environmental Pollution*, 249: 750-757. Factor de impacto 5.714 (2018) (19109753). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.056>
6. Vanegas J, A Muñoz-García, A Pérez, I Figueroa-Galvis, O Mestanza, J Polania. 2019. Effect of salinity on fungal diversity associated to the rhizosphere of the halophyte *Avicennia germinans* from a semiarid mangrove. *Fungal Ecology* 42 (2019) 100855 Factor de impacto 3.990 (2018). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.07.009>