

Alicia García-Roldán, Blanca Vera-Gargallo, Rafael R. de la Haba, Cristina Sánchez-Porro y Antonio Ventosa

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla

agroldan@us.es

INTRODUCCIÓN

AMBIENTE EXTREMO: Ambiente que presenta niveles especialmente elevados o bajos de uno o varios factores físico-químicos, como pH, radiación solar, temperatura, presión, nutrientes o concentración salina.

→ **AMBIENTE HIPERSALINO** → **SALINAS DE ISLA CRISTINA (HUELVA)**



Son un ejemplo de ambiente hipersalino acuático. Nuestro grupo ha centrado sus estudios en estas salinas llegando a describir numerosos nuevos taxones, por lo que se conocen datos puntuales referidos a la diversidad taxonómica.

Además, tan sólo existe un estudio metagenómico realizado en este ambiente que fue llevado a cabo en 2014, por lo que apenas se conocen datos sobre la influencia de la salinidad en la diversidad funcional y taxonómica, así como el potencial metabólico de dicho ambiente.



Figura 1. Salinas de Isla Cristina (Huelva).



Figura 2. Recogida de muestras en julio de 2021 en Isla Cristina (Huelva).



Figura 3. Salinas de Isla Cristina (Huelva) en julio de 2021.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se obtuvieron muestras de cuatro estanques con salinidades del 19,5%, 22%, 36% y 39% (p/v). Se secuenció su ADN metagenómico (de las muestras al 36% y 39% se secuenciaron por duplicado) mediante la estrategia *shotgun* obteniendo los metagenomas denominados IC19,5, IC22, IC36 1, IC36 2, IC39 1 e IC39 2, respectivamente y los datos brutos de secuenciación se analizaron con servicios de supercomputación siguiendo los protocolos de MetaWRAP y SqueezeMeta, entre otros.

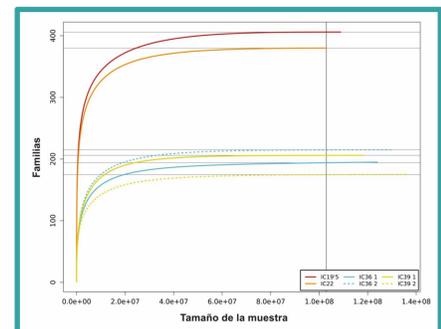


Figura 4. Curva de rarefacción basada en el número de familias procariontas detectadas en función de la profundidad de secuenciación. Se observa que el muestreo de lecturas captura de forma adecuada la diversidad a este nivel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

DIVERSIDAD FUNCIONAL

La evaluación global de las funciones (KEGG ID) codificadas en los metagenomas estudiados (Figura 5) muestra que existe una diferencia tanto en abundancia, como en presencia/ausencia de funciones entre los metagenomas de salinidades intermedias (19,5 y 22%) y los de alta salinidad (36 y 39%). La diversidad alfa a nivel de los términos KEGG identificados (Figura 6) difiere sólo ligeramente entre muestras. Estos resultados sugieren que la concentración salina no influye significativamente en la diversidad de funciones en el rango salino estudiado, pero probablemente condiciona la presencia o ausencia de funciones concretas a lo largo del gradiente de salinidad.

Posteriormente, se analizaron con profundidad algunas funciones de interés por su implicación ecológica y/o biotecnológica a nivel de los bins de calidad alta y media extraídos (Tabla 1). Concretamente, se estudiaron las rutas de la síntesis de biotina, β -caroteno y bacteriorrubrina (Tabla 2).

En el caso de la síntesis de biotina (compuesto sintetizado únicamente por procariontas, hongos y algunas plantas, pero esencial para los mamíferos) se encontró que son muy pocos los bins que producen dicha sustancia, aunque esta función está presente en todo el rango salino. Los bins encontrados a salinidades intermedias se engloban dentro de los phyla *Bacteroidota* y *Pseudomonadota*, mientras que los bins encontrados a salinidades altas se engloban en el phylum "*Euryarchaeota*". El transportador de la biotina es, sin embargo, codificado por un alto porcentaje de los bins. Estos resultados sugieren la importancia ecológica de los taxones capaces de sintetizar la biotina, que podrían suministrar este compuesto al resto de miembros de la comunidad, los cuales son incapaces de producirla por sí mismos.

La proporción de productores de β -caroteno no varía especialmente a lo largo del gradiente de concentración salina. Sin embargo, se observa cómo la capacidad de síntesis de bacteriorrubrina aumenta con la salinidad, lo cual podría contribuir a explicar por qué las salinas presentan un color rojo más oscuro a concentraciones salinas más elevadas. La ruta de síntesis de bacteriorrubrina comienza a partir de licopeno, que, a su vez, es un β -caroteno. Aunque existan muchos taxones capaces de sintetizar bacteriorrubrina, sólo unos pocos presentan el producto de partida necesario para llevar a cabo el proceso (debido a que presentan la ruta de la síntesis del β -caroteno completa). De nuevo, encontramos taxones de gran importancia dentro de la comunidad debido a su papel de donador de compuestos esenciales para llevar a cabo ciertos procesos.

Tabla 2. Presencia o ausencia de las rutas de síntesis de biotina, transporte de biotina, síntesis de β -caroteno y bacteriorrubrina en los bins obtenidos. Se marca con asterisco los bins de alta calidad. Los números hacen referencia a los genes que faltan para completar la ruta y el color sólido de la celda indica que la ruta está completa. Los colores de las celdas de los bins hacen referencia a los metagenomas de los que provienen: IC19,5-rojo, IC22-naranja, IC36 1-azul oscuro, IC36 2-azul claro, IC39 1-amarillo oscuro, IC39 2-amarillo claro.

BINS	SÍNTESIS DE BIOTINA	TRANSPORTADOR BIOTINA	β -CAROTENO	BACTERIORRUBRINA
c157*	--	--	2	--
c78*	--	--	--	--
m006	--	--	2	--
c108	--	--	--	--
c129	--	--	2	--
c150	--	--	--	--
c145	--	--	--	--
c116	--	--	--	--
m013	--	--	4	--
c166	--	--	--	--
c6	--	--	2	--
c86	--	--	--	--
c154	--	--	2	--
m001	--	--	--	--
c59	--	--	--	--
c50	--	--	--	--
m002	--	--	2	--
c174	--	--	4	--
c25	--	--	2	--
c40	--	--	2	--
m010	--	--	--	--
c14	--	--	2	--
m025	--	--	--	--
c149	--	--	2	--
c90	--	--	2	--
c41	--	--	2	--
c155	--	--	--	--
m037	--	--	2	--
c140	--	--	--	--
c160	--	--	--	--
c88	--	--	--	--
m020	--	--	--	--
m067	--	--	2	--
c80	--	--	--	--
m011	--	--	2	--
c65*	--	--	--	--
c83	--	--	--	--
c98	--	--	--	--
c51	--	--	--	--
c128	--	--	4	2
mb2_7	--	--	4	2
c106	--	--	4	--
c104*	--	--	--	--
c99	--	--	--	--
c99	--	--	4	--
c63	--	--	2	--
c64	--	--	--	--
m006	--	--	--	--
c73	--	--	2	--
c34	--	--	2	--
c106	--	--	2	--
c96	--	--	2	--
c105	--	--	--	--
c91	--	--	4	--
c76	--	--	4	2
c5	--	--	--	2
c72	--	--	2	--
c83	--	--	--	2
c24	--	--	--	--
c38	--	--	2	--
c70	--	--	--	--
c5	--	--	4	2
c77	--	--	--	2
c15	--	--	4	--
c43	--	--	4	--

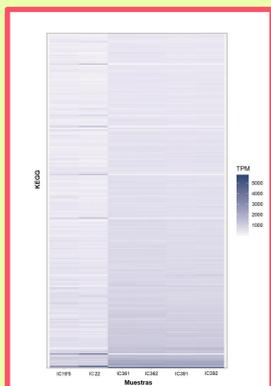


Figura 5. Abundancia expresada en Transcritos Por Millón (TPM) de los diferentes términos KEGG en los metagenomas analizados, ordenados de menor a mayor concentración salina.

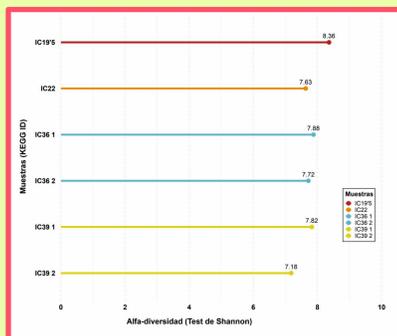


Figura 6. Diversidad alfa (índice de Shannon) referida a los términos KEGG en cada metagenoma.

	HIGH QUALITY	MEDIUM QUALITY
IC19,5	2	18
IC22	0	15
IC36 1	1	6
IC36 2	1	8
IC39 1	0	8
IC39 2	0	6

Tabla 1. Relación de los bins extraídos de cada muestra y su calidad según Bowers R., et al. (2017) (doi: 10.1038/nbi.3893)

DIVERSIDAD TAXONÓMICA

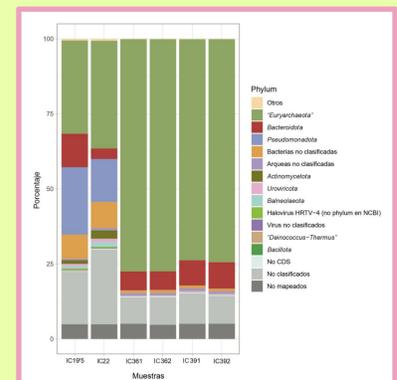


Figura 7. Abundancia relativa de los diferentes phyla encontrados en los metagenomas analizados, ordenados de menor a mayor concentración salina.

Las Figuras 7 y 8 muestran cómo la diversidad taxonómica aumenta conforme la concentración salina decrece.

Concretamente, en la Figura 7 se observa que, a salinidades altas, existe una mayor presencia del phylum "*Euryarchaeota*", mientras que a salinidades intermedias la abundancia de este grupo se reduce para dejar paso a otros phyla como *Bacteroidota*, *Pseudomonadota*, *Bacteriota* y *Actinomycetota*.

Destaca el género *Halonotus* como principal representante del phylum "*Euryarchaeota*", al igual que los géneros *Haloquadratum* y *Haloquadratum*, así como el género *Salinibacter* (perteneciente al phylum *Rhodothermata*), todos ellos sólo detectados en los metagenomas con altas concentraciones salinas. A bajas concentraciones salinas destaca la presencia del género *Spiribacter*, el cual, al contrario que los mencionados, no está presente a concentraciones altas.

Existe también un grupo de secuencias no asociadas con ningún taxón conocido, que suponen hasta el 25% de las lecturas como es el caso de las muestras IC19,5 e IC22, poniendo de manifiesto la presencia de una importante cantidad de materia oscura microbiana en las salinas estudiadas.

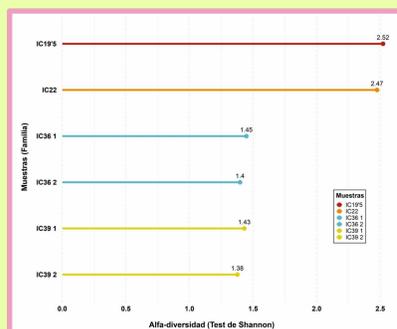


Figura 8. Diversidad alfa calculada a nivel de familia mediante el índice de Shannon.

CONCLUSIONES

- La diversidad taxonómica de las comunidades procariontas estudiadas disminuye al aumentar la salinidad del medio.
- La diversidad funcional de las comunidades procariontas estudiadas no varía en función de la salinidad del medio, pero sí varía el tipo de funciones presentes.
- Estos resultados sugieren la existencia de taxones indispensables en la comunidad procarionta debido a su capacidad de síntesis de sustancias esenciales como la biotina, β -caroteno y bacteriorrubrina.
- Estos resultados indican la existencia de taxones en la comunidad procarionta que desarrollan algunas funciones a través de sustancias captadas del medio y sintetizadas por otros individuos de la comunidad.

FINANCIACIÓN Y AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado por proyectos del Ministerio de Ciencia e Innovación/AEI/10.13039/501100011033 (PID2020-118136GB-I00) y de la Junta de Andalucía (P20_01066 y BIO-213), que incluyen fondos FEDER.

Nos gustaría dar las gracias al Centro de Supercomputación y Bioinnovación de la Universidad de Málaga por ceder sus recursos informáticos a través del superordenador Picasso y, especialmente, al departamento de soporte por haber ayudado a resolver los problemas técnicos que nos hemos encontrado por el camino.