

Estudio de la diversidad y potencial biotecnológico de microorganismos asociados a suelos del páramo de Santurbán, Santander

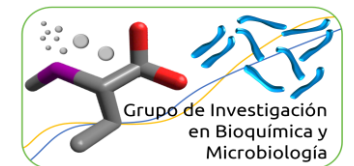
German Zafra, PhD.
Escuela de Microbiología

Grupo de investigación en Bioquímica y Microbiología – GIBIM

#LaUISqueQueremos



Universidad
Industrial de
Santander



El paramo de Santurbán



Universidad
Industrial de
Santander



En el departamento de Santander y especialmente en el páramo de Santurbán, la biodiversidad de los microorganismos ha sido poco explorada y documentada.

En este proyecto se estudió de manera preliminar, mediante sistemática molecular, la diversidad de los microorganismos presentes en los suelos del páramo de Santurbán en el departamento de Santander, mediante el uso de técnicas independientes del cultivo microbiológico tradicional, constituyendo a su vez el primer paso en la generación de una línea base de información de este tipo en Santander.

Somos **el mejor** escenario
de creación e innovación.

www.uis.edu.co



Pregunta de investigación

¿Cuál es la diversidad y potencial biotecnológico de microorganismos nativos presentes en suelos del páramo de Santurbán?



Universidad
Industrial de
Santander

Objetivo general

Estimar la diversidad taxonómica y potencial biotecnológico de comunidades microbianas presentes en suelos provenientes del páramo de Santurbán, Santander, mediante el uso de herramientas metagenómicas y bioinformáticas.

Somos **el mejor** escenario
de creación e innovación.

www.uis.edu.co



Objetivos específicos

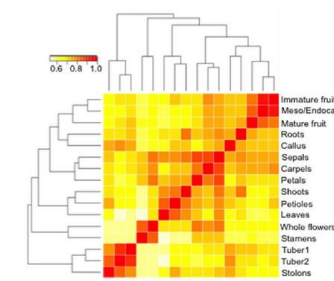
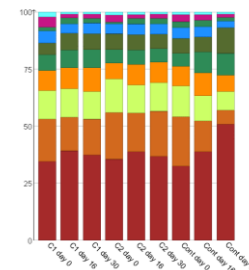
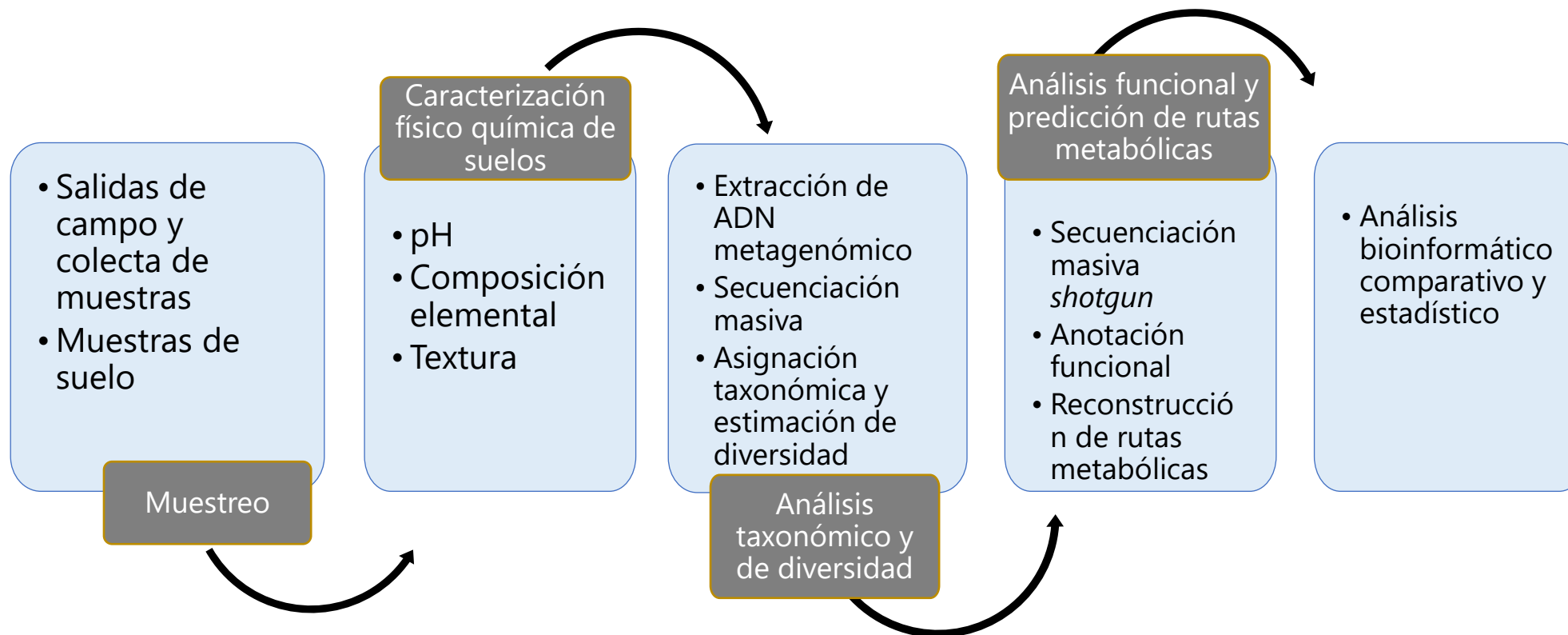
- Obtener metagenomas representativos de las comunidades microbianas presentes en suelos provenientes del páramo de Santurbán, Santander.
- Estimar la abundancia relativa y diversidad de las comunidades microbianas presentes en los metagenomas obtenidos.
- Identificar la abundancia de genes y posibles rutas metabólicas predominantes de las comunidades microbianas presentes en los suelos analizados.



Metodología



Universidad Industrial de Santander



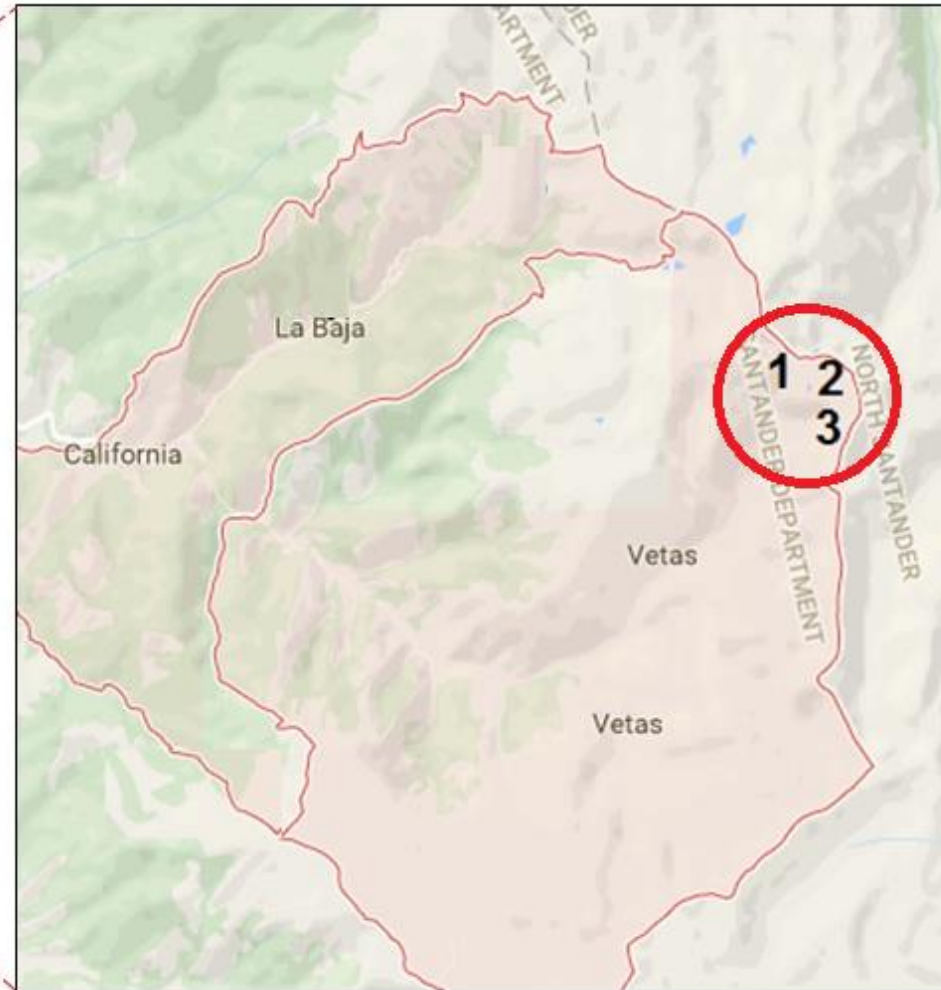
escenario de creación e innovación.

www.uis.edu.co

Área geográfica del proyecto



Universidad
Industrial de
Santander



1. Complejo lagunar el Tatal, Vereda el Salado.
2. Morronevado, Vereda el Salado.
3. Complejo lagunar Cuntas, Vereda el Salado.

nejor escenario
de creación e innovación.

www.uis.edu.co

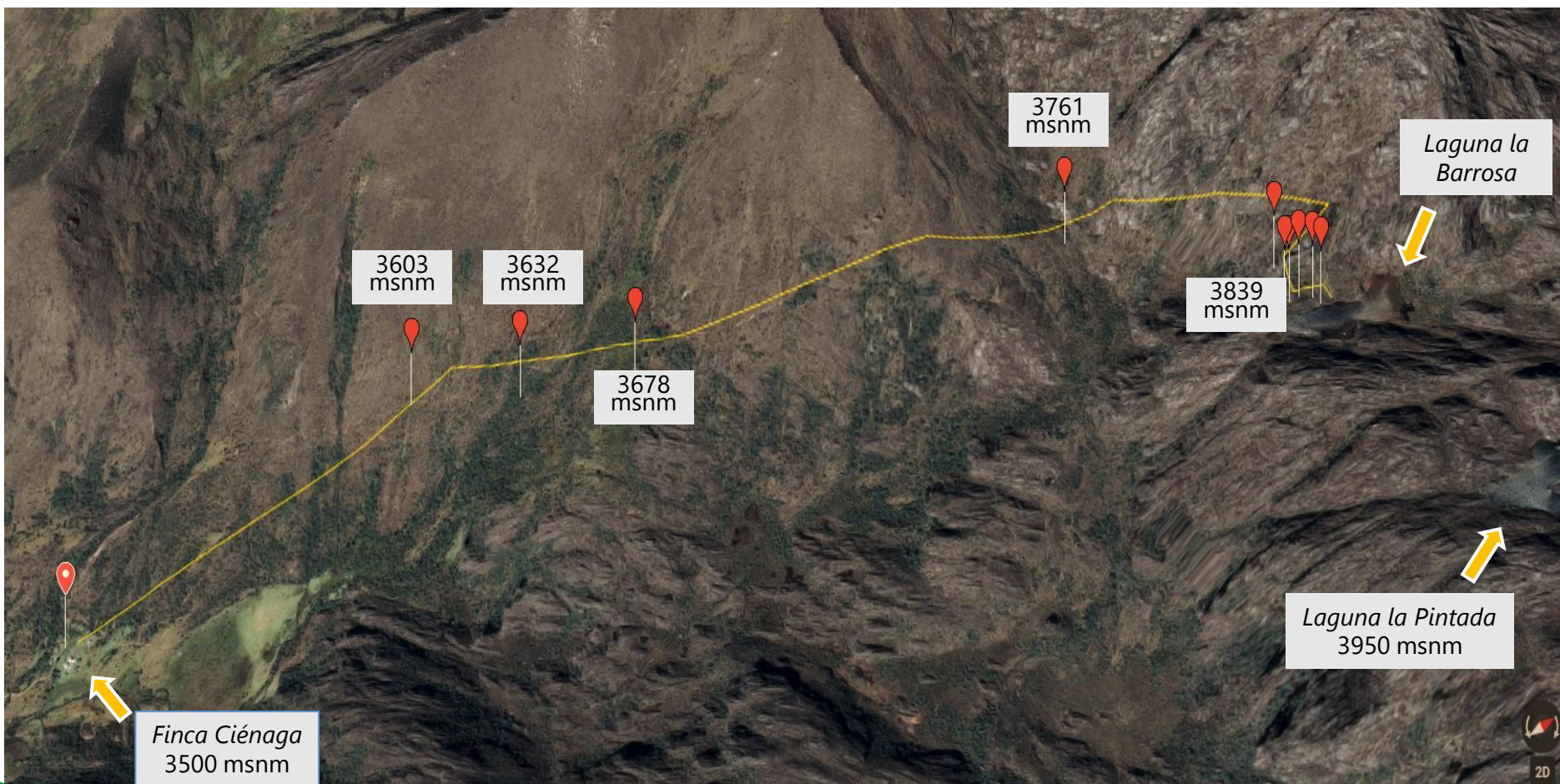


Salida de campo No. 1

- Lugar: Vetas, Santander. Predio Ciénaga, Laguna La barrosa,
- Fecha: Viernes 23 de Noviembre de 2018



Universidad
Industrial de
Santander



Somos **el mejor** escenario
de creación e innovación.

www.uis.edu.co



Salida de campo No. 1

- Lugar: Vetas, Santander. Predio Ciénaga, Laguna La barrosa,
- Fecha: Viernes 23 de Noviembre de 2018



Universidad
Industrial de
Santander

Somos **el mejor** escenario
de creación e innovación.

www.uis.edu.co

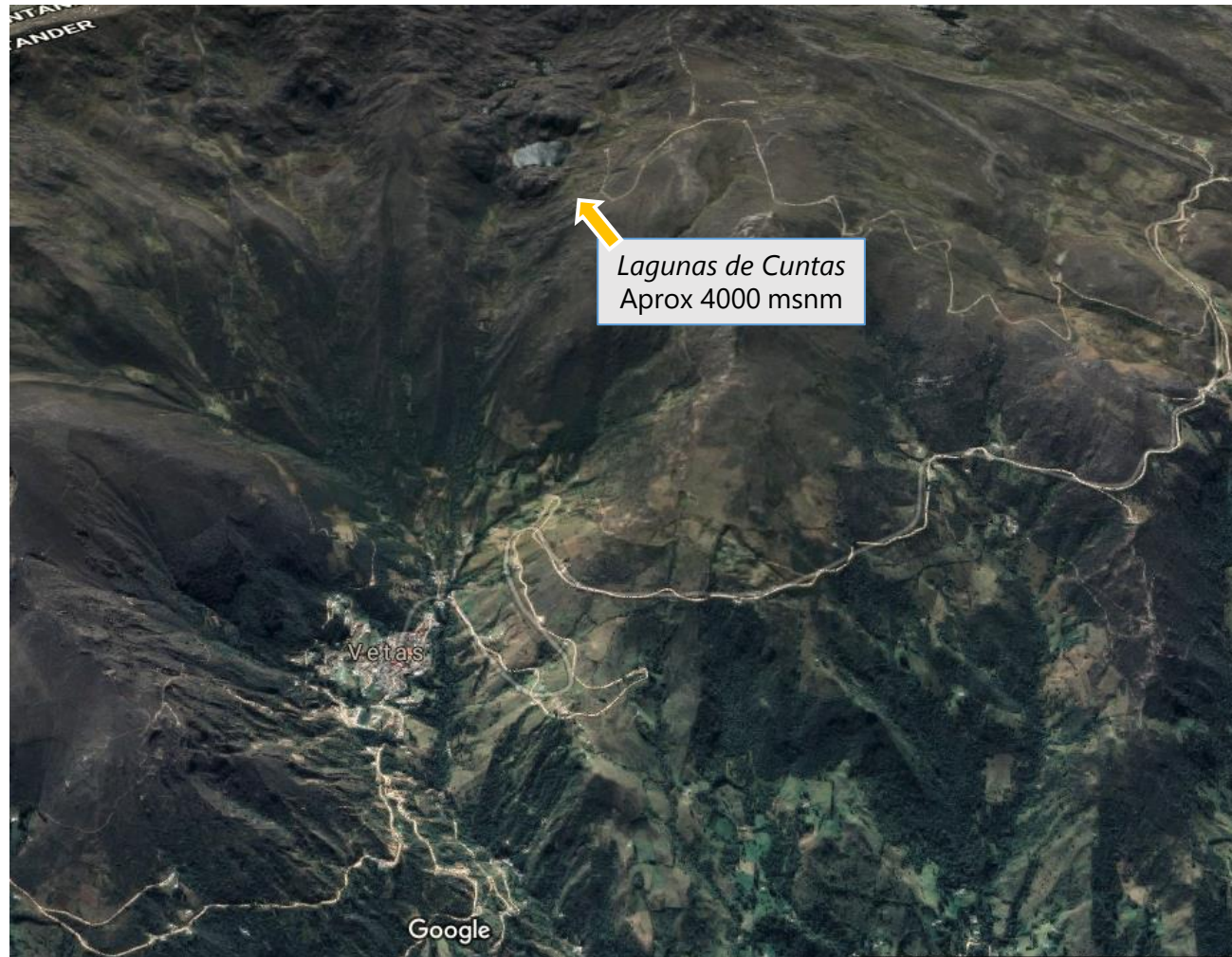
Salida de campo No. 2

Lugar: Vetas, Santander. Lagunas de Cuntas

Fecha: Viernes 29 de marzo de 2019



Universidad
Industrial de
Santander



Somos **el mejor** escenario
de creación e innovación.

www.uis.edu.co

Relación de muestras de suelo en proceso de secuenciación de ADN

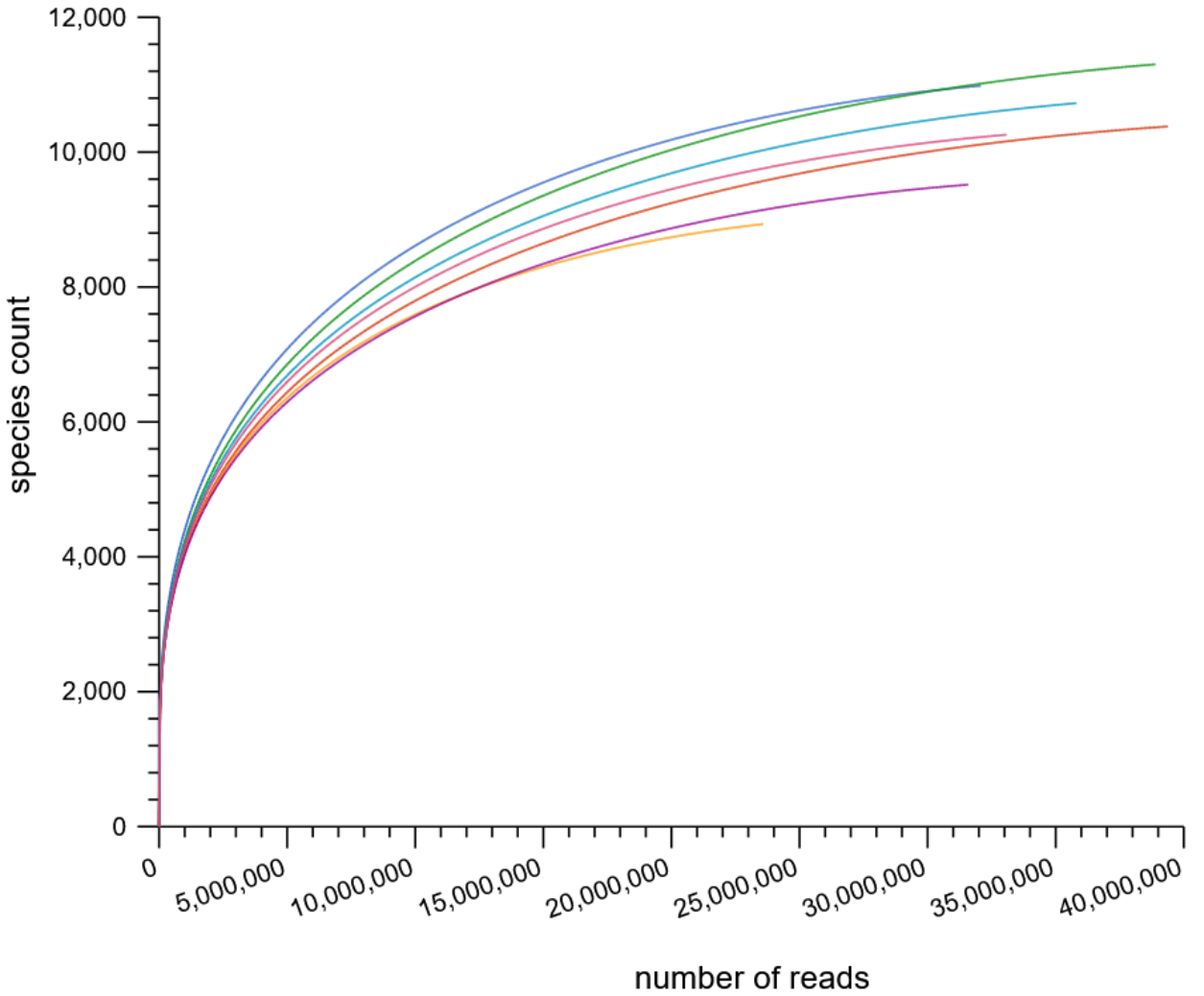


Sample	Site	Coordinates (GPS)		Altitude (GPS)	Texture	pH	Total organic carbon (%)	Total Nitrogen (%)	Phosphorous (%)
STB-02S	LAGUNA LA BARROSA	N 07°21,470'	W 072°50,905'	3839m	Sandy loam	6,01	18,2	0,64	Low
STB-02R	LAGUNA LA BARROSA	N 07°21,470'	W 072°50,905'	3839m	Sandy loam	5,9	18,0	0,71	Low
STB-06S	FINCA CIENAGA-QUEBRADA	N 07°20,219'	W 072°51,218'	3678m	Sandy loam	6,03	16	0,57	Low
STB-08R	FINCA CIENAGA	N 07°20,714'	W 072°51,355'	3603m	Sandy loam	6,08	12	0,59	Low
STB-10S	PREDIO CUNTA	N 07°16,661'	W 072°52,230'	4041m	Sandy loam	6	22,3	0,51	Low
STB-10R	PREDIO CUNTA	N 07°16,661'	W 072°52,230'	4041m	Sandy loam	6,25	22,6	0,61	Low
STB-11S	PREDIO CUNTA	N 07°16,748'	W 072°52,325'	4001m	Sandy loam	6,15	19,8	0,43	Low
STB-13S	PREDIO CUNTA	N 07°17,263'	W 072°52,690'	3920m	Sandy loam	6,12	18,7	0,66	Low
STB-14S	PREDIO CUNTA	N 07°17,514'	W 072°52,796'	3923m	Sandy loam	6,06	17,0	0,65	Low

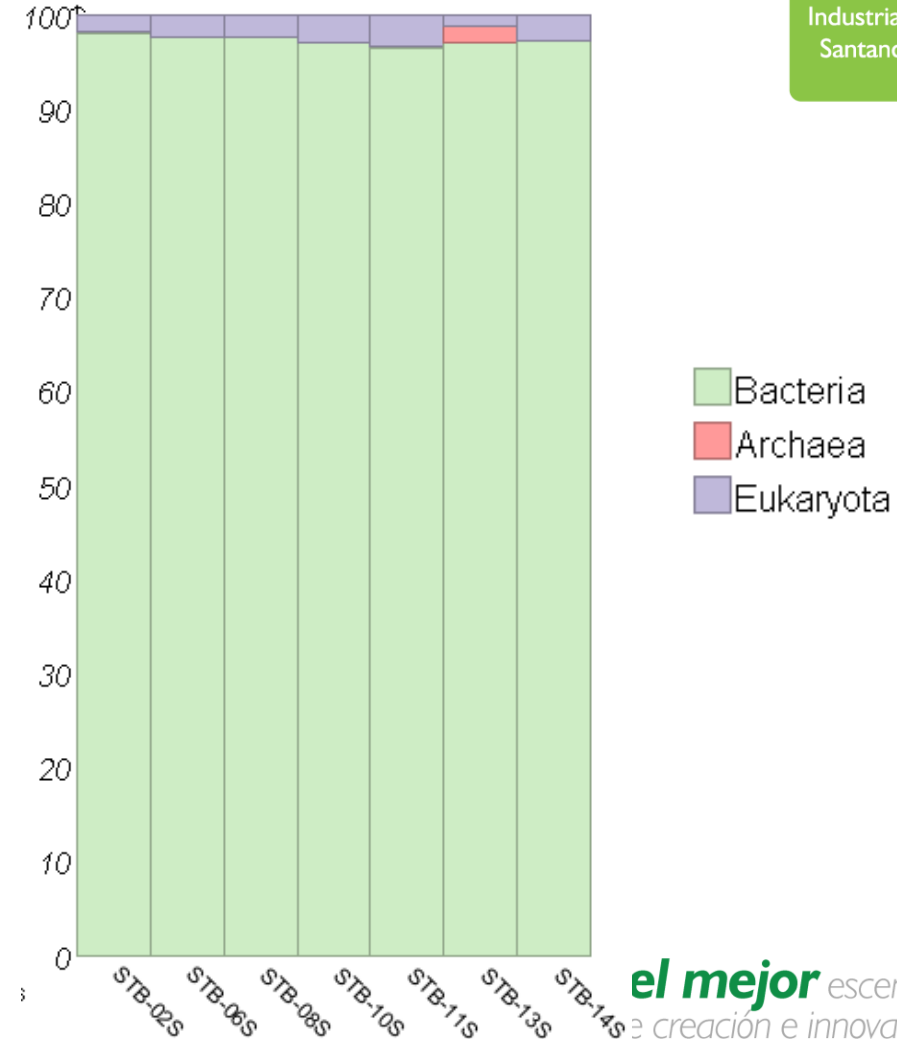


Universidad Industrial de Santander

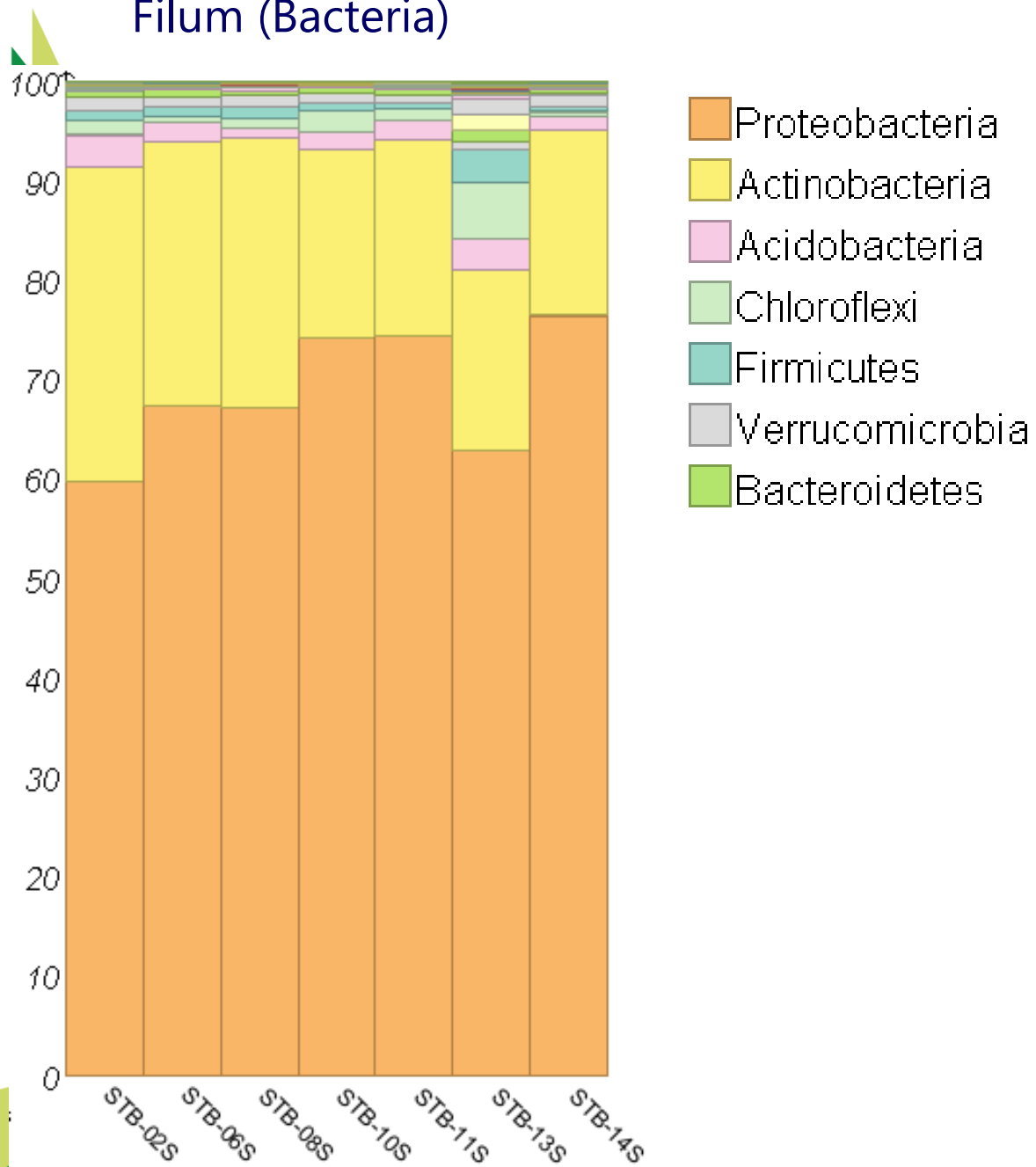
Curva de rarefacción



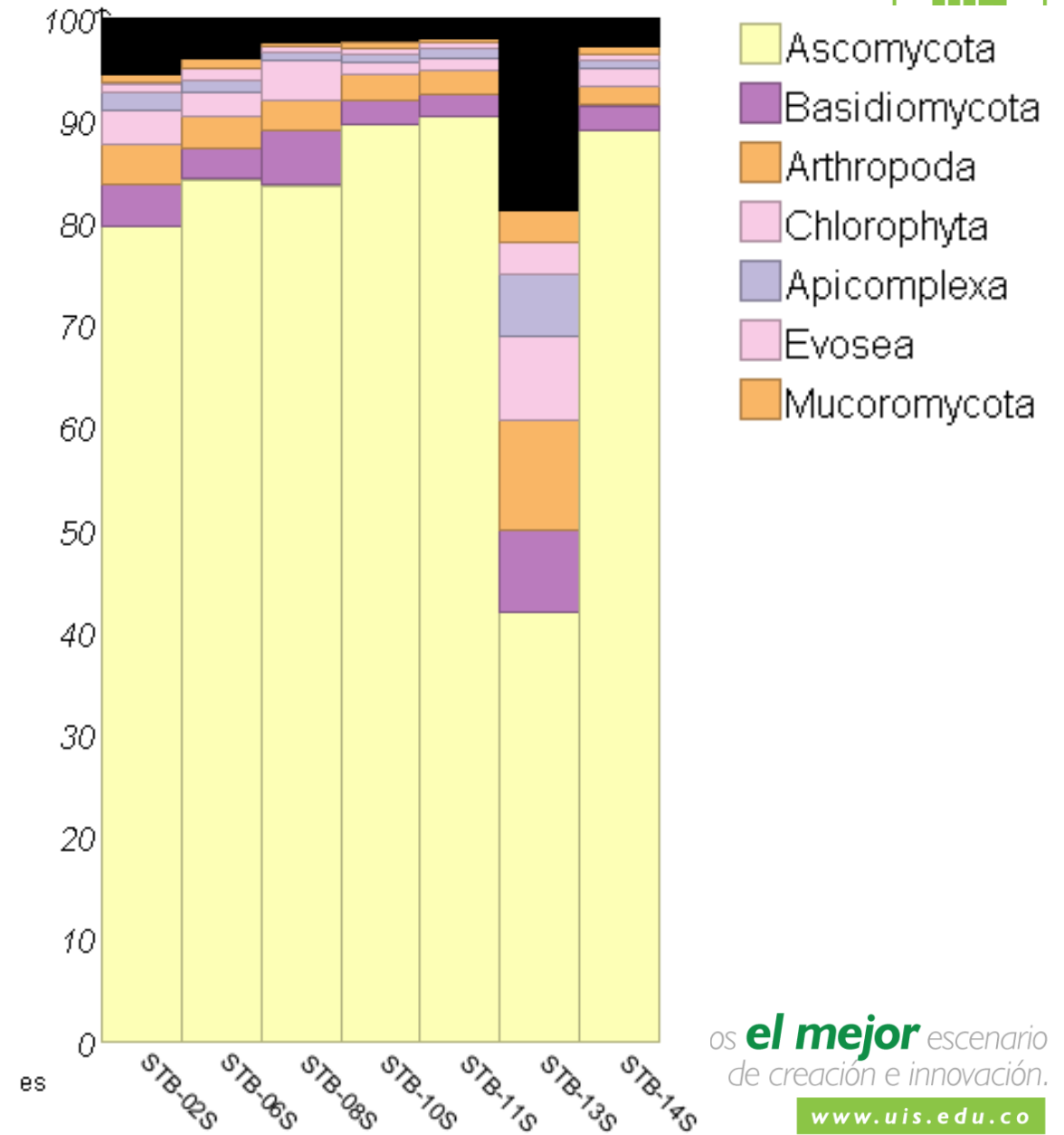
Abundancia (Dominio)



Filum (Bacteria)

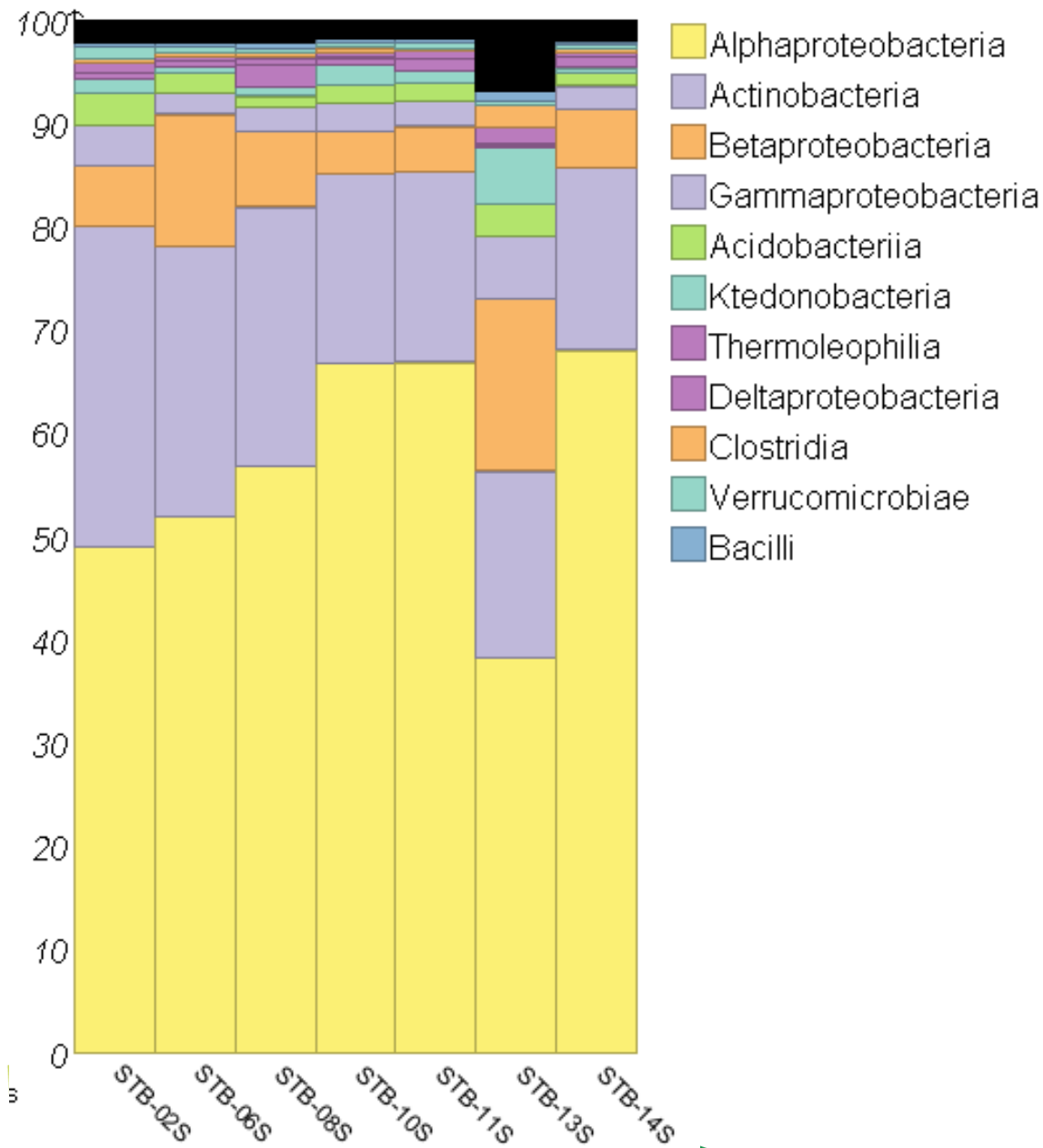


Filum (Eukaryota)

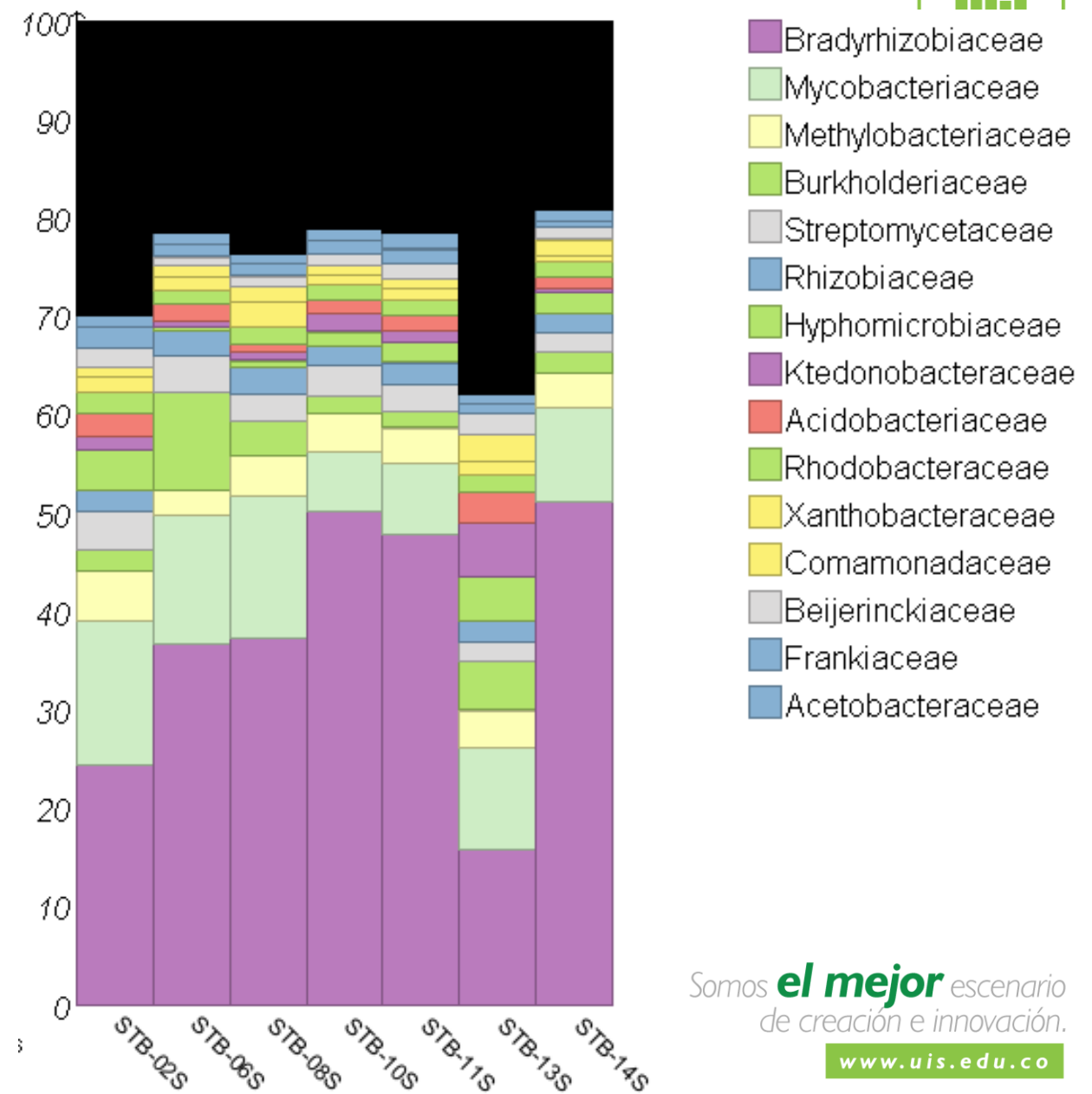


os **el mejor** escenario de creación e innovación.

Clase (Bacteria)



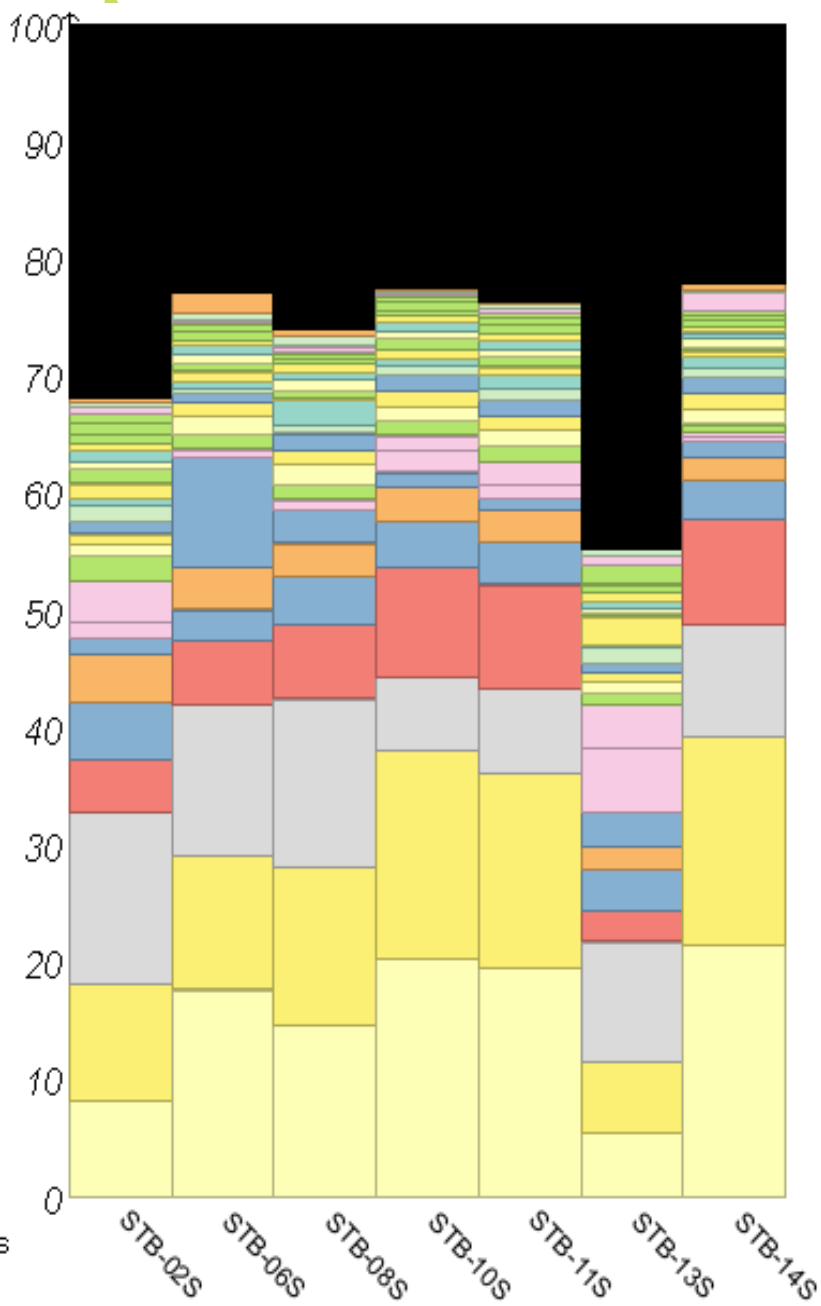
Familia (Bacteria)



Somos **el mejor** escenario de creación e innovación.

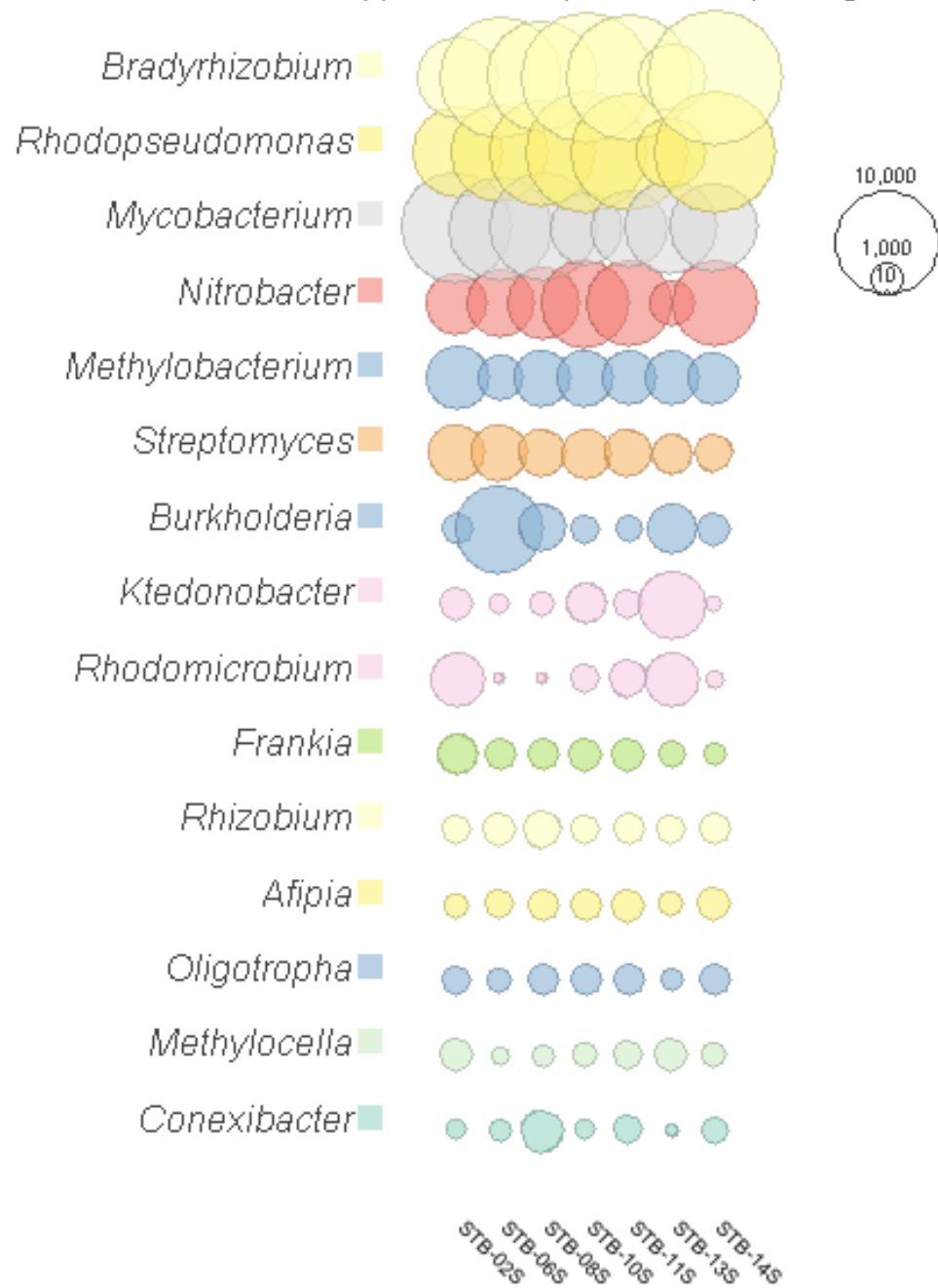
www.uis.edu.co

Género (Bacteria)



- Bradyrhizobium
- Rhodopseudomonas
- Mycobacterium
- Nitrobacter
- Methylobacterium
- Streptomyces
- Burkholderia
- Ktedonobacter
- Rhodomicrobium
- Frankia
- Rhizobium
- Afipia
- Oligotropha
- Methylocella
- Conexibacter
- Candidatus Koribacter
- Streptosporangium
- Mesorhizobium
- Thermomonospora
- Sinorhizobium
- Acidobacterium
- Thermobifida
- Methylosinus

Taxonomy profile for Comparison RefSeq 90.megan



Identificación preliminar de microorganismos en suelos del páramo

Suelos no asociados a
plantas



Bacteria: Phylum (Clase)

1. Proteobacteria (Alpha, beta, deltaproteobacteria)
2. Actinobacteria (Actinobacteria)
3. Acidobacteria (Solibacteres)
4. Planctomycetes (Planctomycetacia)

Archaea (Phylum (Clase))

1. Thaumarchaeota

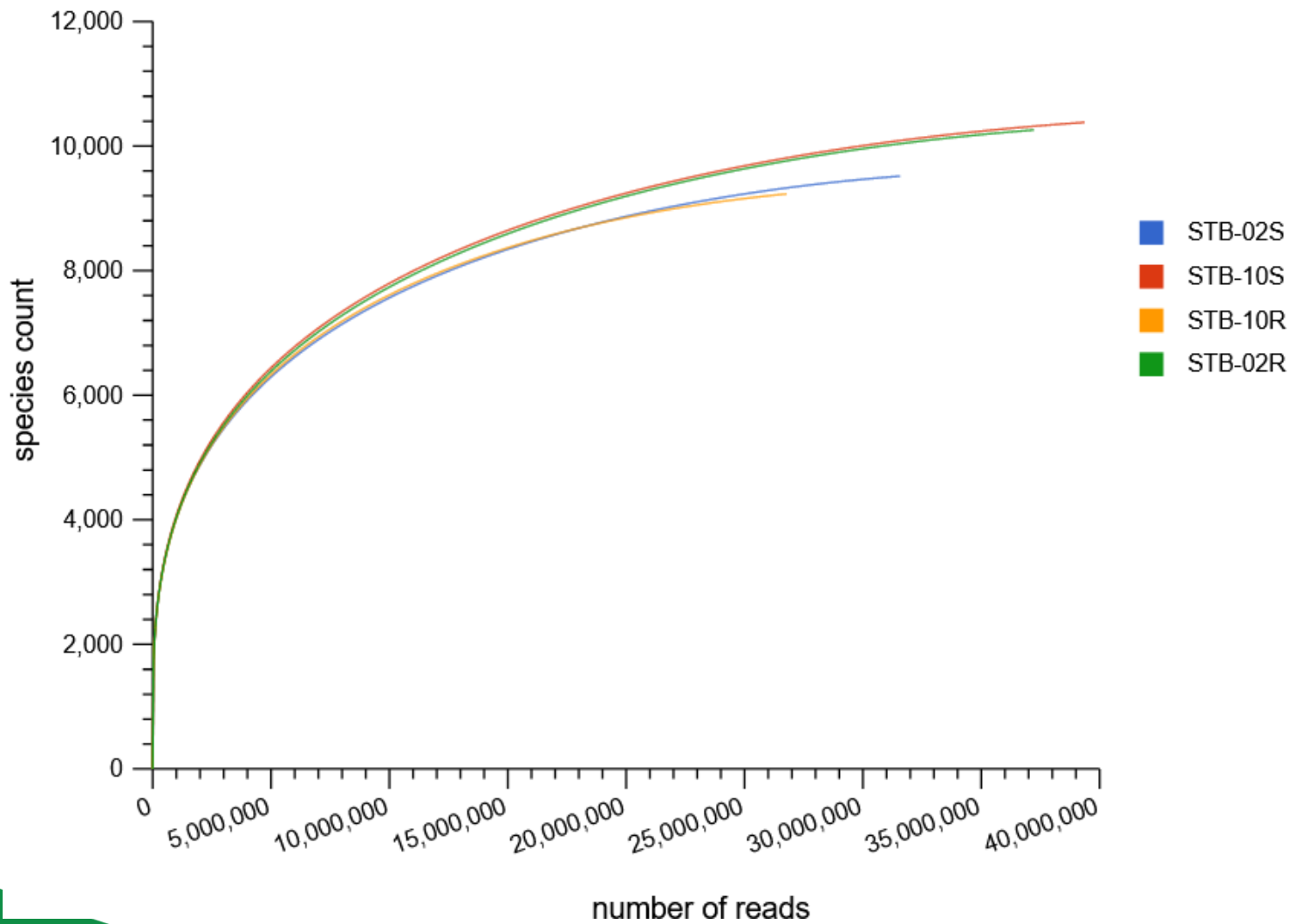
Fungi: Phylum (Clase)

1. Ascomycota (Eurotiomycetes, Sordariomycetes)

Géneros bacterianos más abundantes:

- *Candidatus Solibacter*
- *Bradyrhizobium*
- *Candidatus Koribacter*
- *Acidobacterium*
- *Mycobacterium*
- *Gemmata*
- *Streptomyces*
- *Burkholderia*
- *Ktedonobacter*
- *Methylobacterium*

Rizósfera (R) vs No-rizósfera (S)



Universidad Industrial de Santander

nos **el mejor** escenario de creación e innovación.

www.uis.edu.co

Rizósfera (R) vs No-rizósfera (S)

Diversidad alfa (*Riqueza específica - S*):

STB-02S



414 especies

STB-02R



394 especies

STB-10S



403 especies

STB-10R



402 especies **el mejor** escenario
de creación e innovación.



Rizósfera (R) vs No-rizósfera (S) - Procariotas

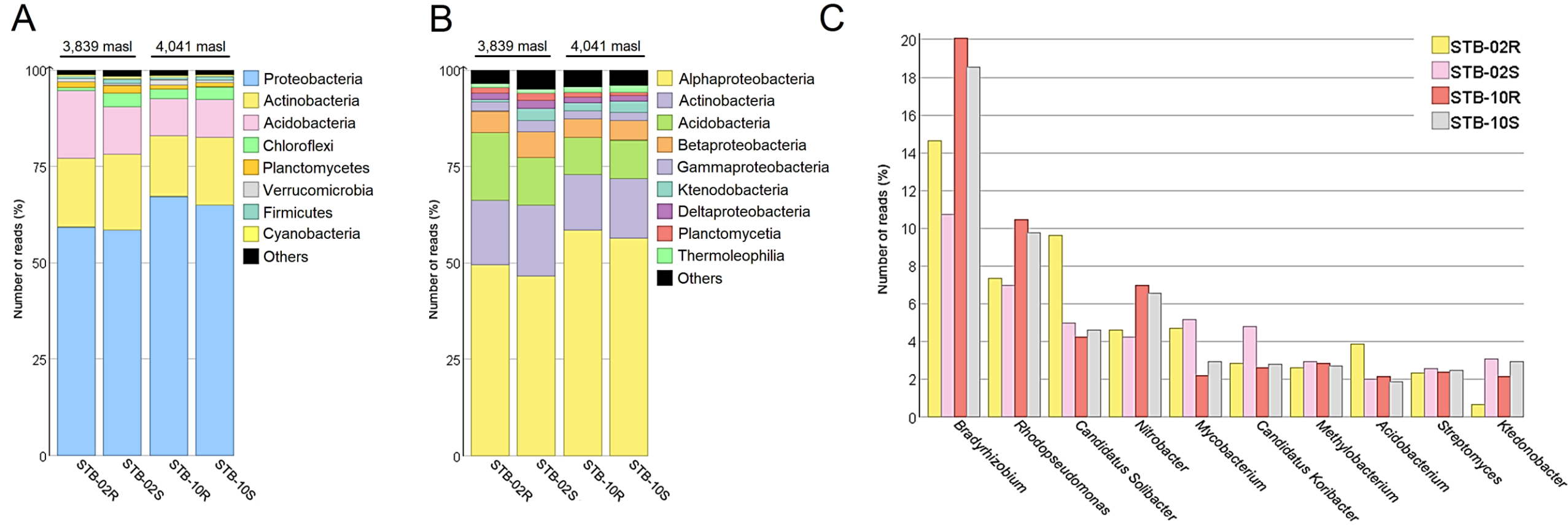


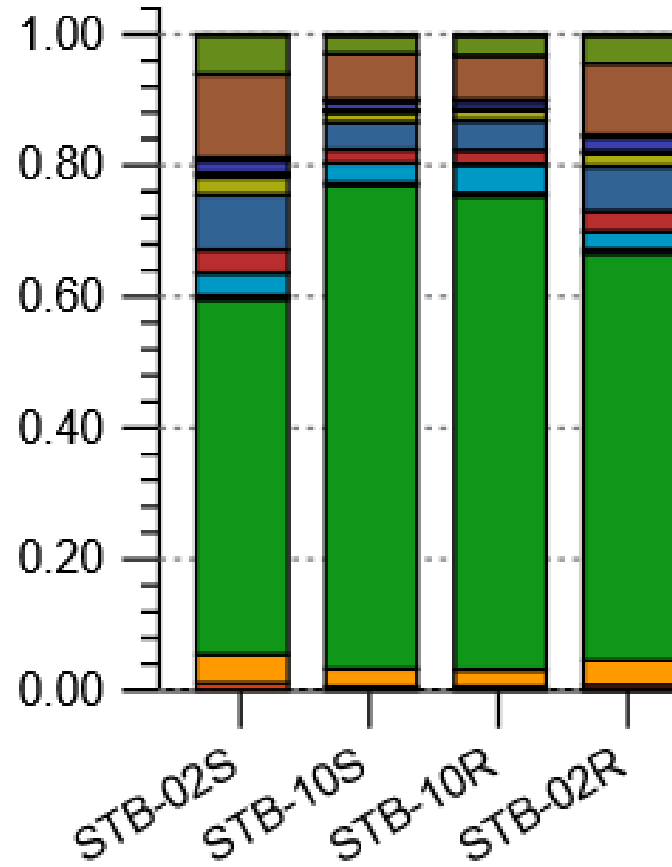
Fig 1. Community composition of prokaryotes in bulk and rhizosphere soils of *Espeletia* spp. A) Relative abundance at phylum level. B) Relative abundance at class level. C) Relative abundance of 10 most abundant prokaryotic genera in soil samples.



Rizósfera (R) vs No-rizósfera (S) - Eucariotas



Universidad Industrial de Santander



- Annelida
- Apicomplexa
- Ascomycota
- Bacillariophyta
- Basidiomycota
- Blastocladiomycota
- Brachiopoda
- Chlorophyta
- Chordata
- Chromerida
- Chytridiomycota
- Cnidaria
- Euglenida
- Glomeromycota
- Hemichordata
- Microsporidia
- Mollusca
- Nematoda
- Phaeophyceae
- Placozoa
- Platyhelminthes
- Streptophyta
- Xanthophyceae
- Xenoturbellida
- unclassified (derived from Eukaryota)
- unclassified (derived from Fungi)

Somos **el mejor** escenario de creación e innovación.

www.uis.edu.co



Rizósfera (R) vs No-rizósfera (S) - Hongos

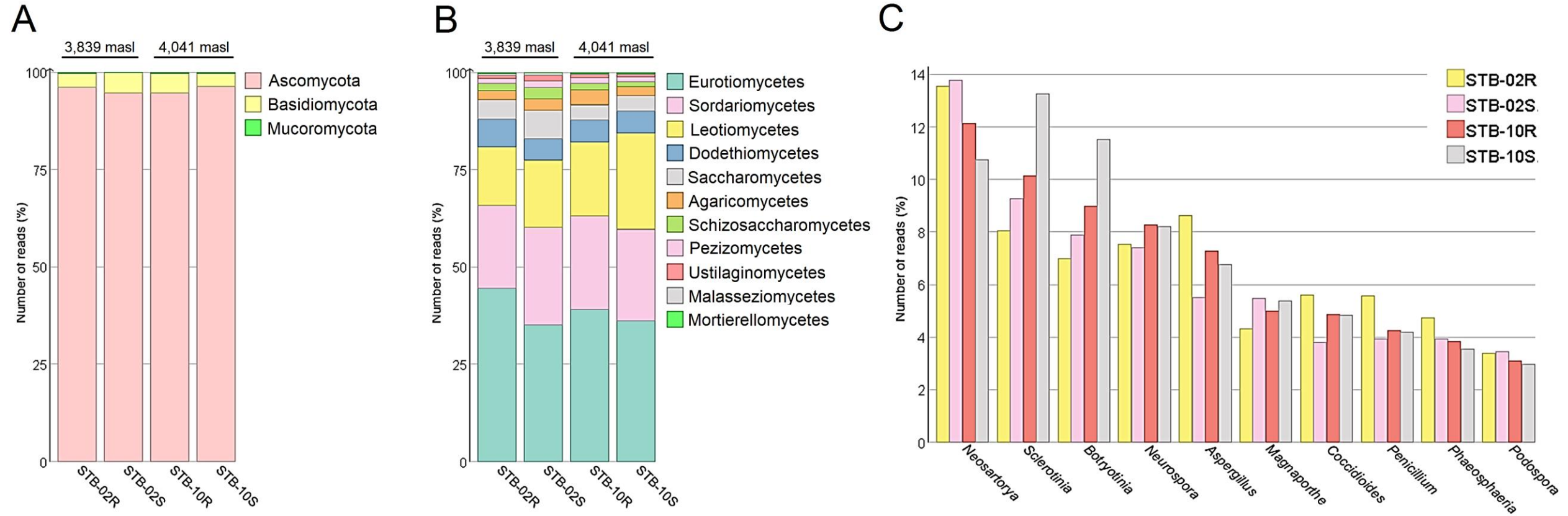
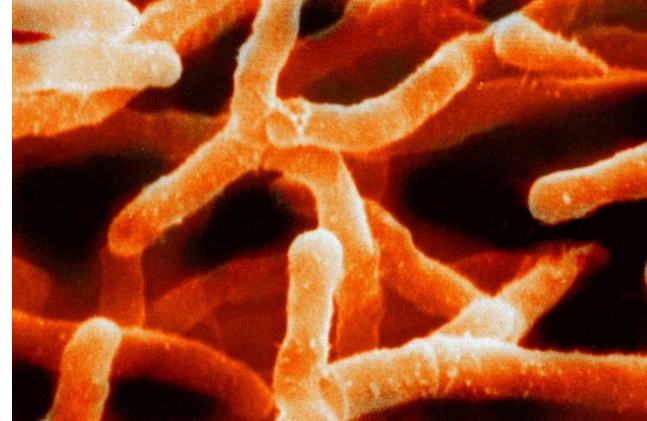


Fig 2. Community composition of fungi in bulk and rhizosphere soils of *Espeletia* spp. A) Relative abundance at phylum level. B) Relative abundance at class level. C) Relative abundance of 10 most abundant fungal genera in soil samples.

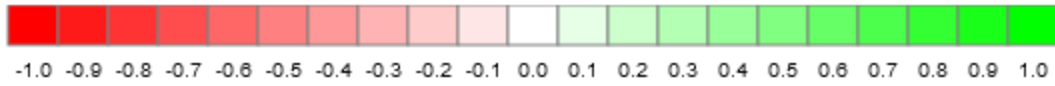
Candidatus *Solibacter*

Domain: Bacteria
Phylum: Acidobacteria
Class: Solibacteres
Order: Solibacterales
Family: Solibacteraceae



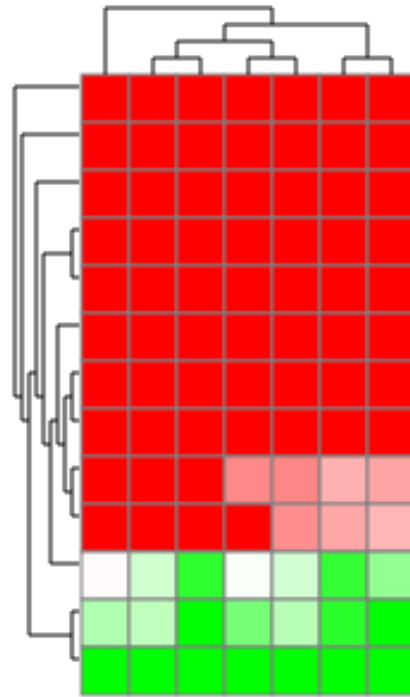
- Bacilos Gram negativos
- Heterótrofo moderadamente acidófilo y versátil.
- Capacidad de reducción de nitrato y nitrito, pero no de fijación de N₂ o desnitrificación.
- Capaz de degradar otros polisacáridos de la pared celular vegetal, con vías enzimáticas completas (polisacáridos liasa y pectina esterasas) para la degradación de pectinas y hemicelulosas.
- Aislado originalmente de suelos asociados a pastos (Australia)
- Candidatus *Solibacter usitatus* Ellin6076

Potencial funcional preliminar (KEGG)

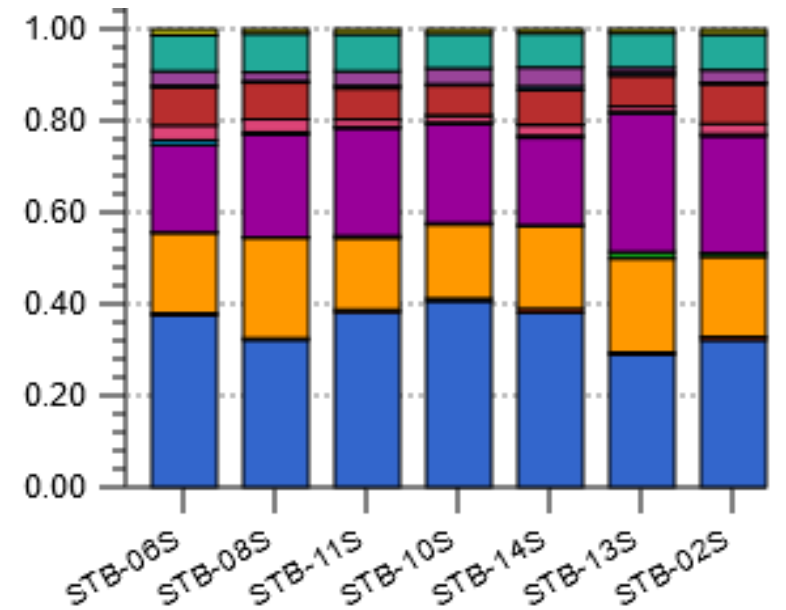


STB-10S
STB-14S
STB-13S
STB-11S
STB-08S
STB-02S

Energy Metabolism
Metabolism of other amino acids
Biosynthesis of other secondary metabolites
Glycan biosynthesis and metabolism
Metabolism of Cofactors and Vitamins
Xenobiotics biodegradation and metabolism
Metabolism of terpenoids and polyketides
Lipid metabolism
Nucleotide metabolism
Metabolism of cofactors and vitamins
Carbohydrate metabolism
Energy metabolism
Amino acid metabolism



- Amino acid metabolism
- Biosynthesis of other secondary metabolites
- Carbohydrate metabolism
- Energy Metabolism
- Energy metabolism
- Glycan biosynthesis and metabolism
- Lipid metabolism
- Metabolism of Cofactors and Vitamins
- Metabolism of cofactors and vitamins
- Metabolism of other amino acids
- Metabolism of terpenoids and polyketides
- Nucleotide metabolism
- Xenobiotics biodegradation and metabolism

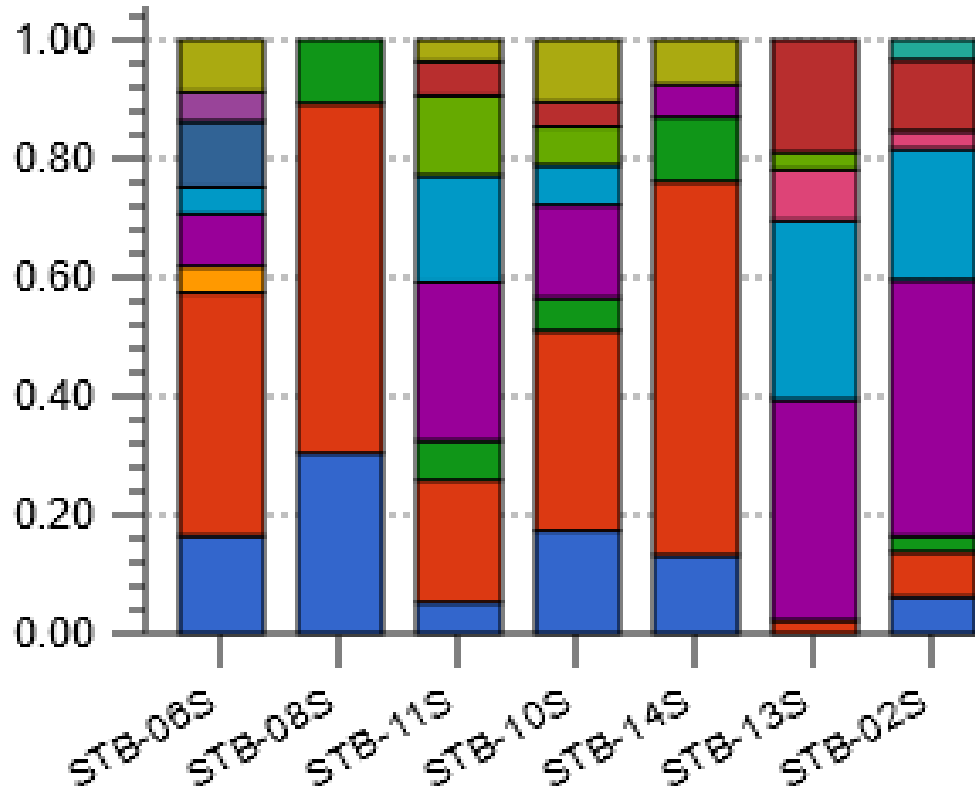


Potencial funcional preliminar (KEGG)

Metabolismo del nitrógeno



Universidad Industrial de Santander



- E1.13.12.16; nitronate monooxygenase [EC:1.13.12.16]
- napA; periplasmic nitrate reductase NapA [EC:1.7.99.4]
- napB; cytochrome c-type protein NapB
- napC; cytochrome c-type protein NapC
- nifD; nitrogenase molybdenum-iron protein alpha chain [EC:1.18.6.1]
- nifH; nitrogenase iron protein NifH [EC:1.18.6.1]
- nifK; nitrogenase molybdenum-iron protein beta chain [EC:1.18.6.1]
- nifN; nitrogenase molybdenum-iron protein NifN
- nifV; homocitrate synthase NifV
- nirB; nitrite reductase (NAD(P)H) large subunit [EC:1.7.1.4]
- norB; nitric oxide reductase subunit B [EC:1.7.2.5]
- norF; nitric-oxide reductase NorF protein [EC:1.7.99.7]
- nosZ; nitrous-oxide reductase [EC:1.7.2.4]

Somos **el mejor** escenario de creación e innovación.



Análisis funcional preliminar

Nitrogen metabolism KEGG level 3 (function)



Universidad Industrial de Santander

	STB-10S	STB-02R	STB-02S	STB-10R
E1.13.12.16; nitronate monooxygenase [EC:1.13.12.16]	0.1473	0.1288	0.085	0.1889
E1.7.1.1; nitrate reductase (NADH) [EC:1.7.1.1]	•	0.0027	•	0.0031
E1.7.2.1; nitrite reductase (NO-forming) [EC:1.7.2.1]	0.0245	0.0235	0.0432	0.0171
E1.7.99.1, hcp; hydroxylamine reductase [EC:1.7.99.1]	0.0003	0.0001	•	•
E1.7.99.4C; nitrate reductase catalytic subunit [EC:1.7.99.4]	0.1328	0.1042	0.0351	0.0793
E4.2.1.1; carbonic anhydrase [EC:4.2.1.1]	0.0001	0.0002	•	0.0002
NIAD; nitrate reductase (NADPH) [EC:1.7.1.3]	•	0.0002	0.0002	0.0002
amoB; ammonia monooxygenase subunit B	•	0.0001	•	•
amoC; ammonia monooxygenase subunit C	0.0001	•	•	•
cah; carbonic anhydrase [EC:4.2.1.1]	•	•	0.0005	•
cynT, can; carbonic anhydrase [EC:4.2.1.1]	0.1256	0.0906	0.1091	0.1431
hao; hydroxylamine oxidase [EC:1.7.3.4]	•	0.001	•	0.0004

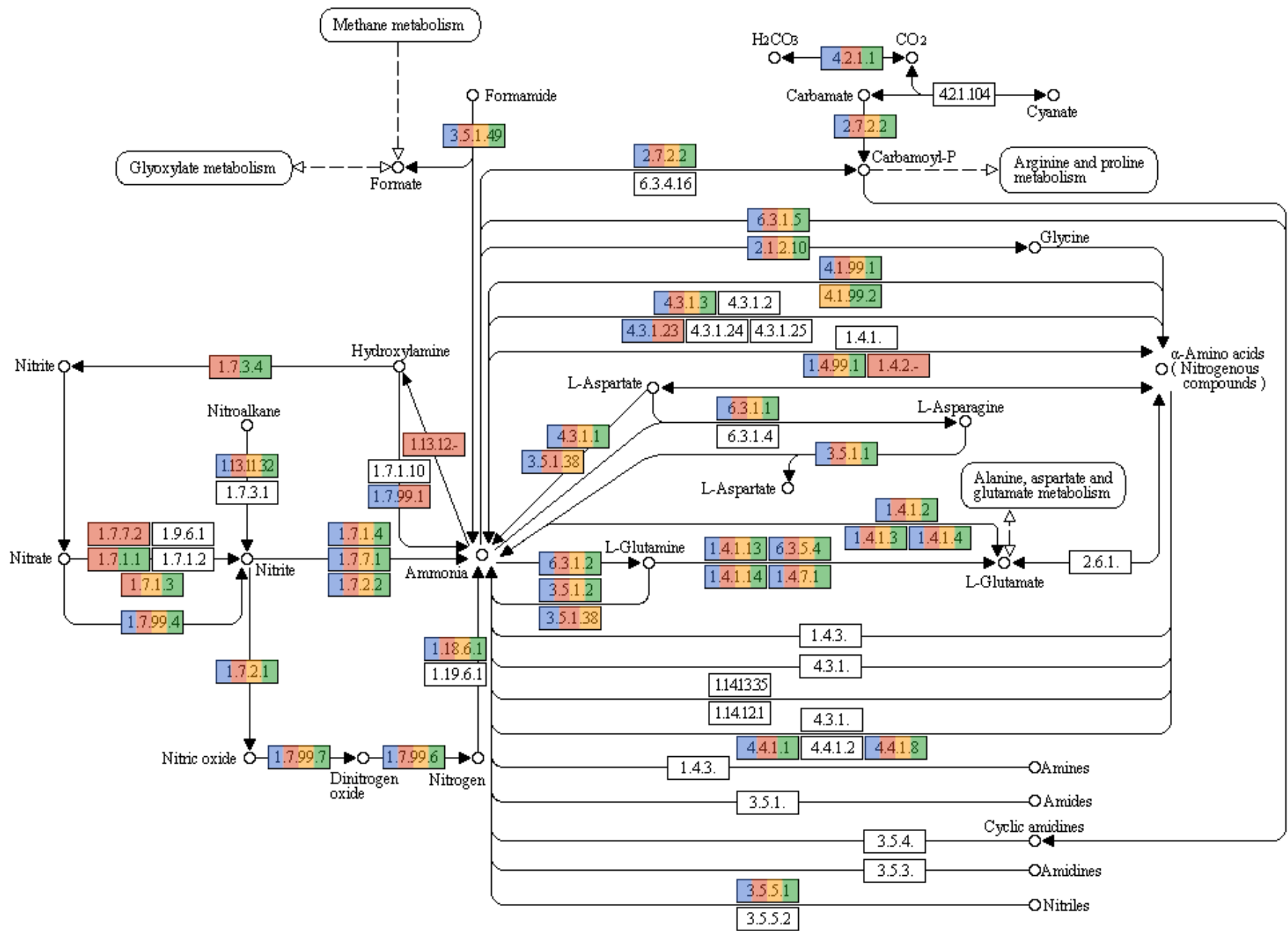
Somos **el mejor** escenario de creación e innovación.

www.uis.edu.co



NITROGEN METABOLISM: REDUCTION AND FIXATION

dataset	color
STB-10S	Blue
STB-02R	Red
STB-02S	Orange
STB-10R	Green



Conclusiones



Universidad
Industrial de
Santander

Se estableció que las comunidades microbianas del suelo del páramo están dominadas principalmente por las clases Alfaproteobacteria (25-43%) y Actinobacteria (21-37%), siendo *Candidatus Solibacter*, *Bradyrhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Nitrobacter*, *Mycobacterium* y *Streptomyces* los géneros microbianos más abundantes.

Los valores del índice de diversidad alfa (Shannon-Weaver) fueron elevados y oscilaron entre 5.17 y 6.71, pero no fueron significativamente diferentes entre muestras de diferentes ubicaciones o altitudes (desde 3600 hasta 4048 m.s.n.m).

Se detectó de manera preliminar una alta proporción de genes involucrados en el metabolismo del nitrógeno y la promoción del crecimiento de las plantas, en el metabolismo energético, en la biosíntesis de metabolitos secundarios y en la biodegradación de xenobióticos, lo que indica un potencial para mejorar el crecimiento de las plantas, incluido el frailejón.

Somos **el mejor** escenario
de creación e innovación.

www.uis.edu.co

Conclusiones

Los resultados finales confirmaron una alta diversidad taxonómica y funcional de las comunidades microbianas de los suelos del páramo de Santurbán, y abren la posibilidad de explorar el uso de estas comunidades en un futuro para fines de biorremediación o biofertilización, con beneficios potenciales para mejorar la resiliencia y productividad de las plantas en ambientes fríos, en especial de los frailejones (*Espeletia* sp.).

Los resultados son preliminares y justifican nuevos estudios con una mayor disponibilidad presupuestal y de tiempo, para analizar la diversidad y potencial de los microorganismos presentes en otras matrices diferentes al suelo (agua, filósfera, etc).



Universidad
Industrial de
Santander

Somos **el mejor** escenario
de creación e innovación.

www.uis.edu.co



Universidad
Industrial de
Santander

#LaUISqueQueremos

iGracias!

