

Análisis bioinformático de D-glicerato deshidrogenasa de *Paenibacillus mucilaginosus* K02 implicada en la solubilización de potasio

Valery G. López¹; Daniel Arturo León Rodríguez²; Duverney Arias G².

RESUMEN:

Las bacterias solubilizadoras de potasio juegan un papel fundamental en el mantenimiento de procesos fisiológicos y metabólicos de las plantas. Entre éstas, *Paenibacillus mucilaginosus* lleva a cabo esta solubilización a través de la producción de ácido glucónico. Se conoce que la enzima D-glicerato deshidrogenasa E.C 1.1.1.215 cataliza una importante reacción para la producción de este. En el presente trabajo, se analizó la proteína ya mencionada, de manera estructural utilizando herramientas bioinformáticas disponibles. Se llevó a cabo un modelamiento por homología del que se obtuvo una estructura no reportada con anterioridad para el microorganismo. Este hallazgo permite estudiar más adelante la función y sus interacciones con otras proteínas a profundidad y sus posibles aplicaciones biotecnológicas.

PALABRAS CLAVE: D-glicerato deshidrogenasa, Modelamiento por homología, *Paenibacillus mucilaginosus*, Potasio.

1 Estudiante del Programa de Microbiología, Universidad Libre Pereira

2 Docente Investigador, Programa de Microbiología, Universidad Libre Pereira

Bioinformatic analysis of D-glycerate Paenibacillus mucilaginosus K02 dehydrogenase involved in the solubilization of potassium

ABSTRACT:

Potassium solubilizing bacteria have a fundamental role in the maintenance of physiological and metabolic processes in plants. Among these, *Paenibacillus mucilaginosus* carries out this solubilization through the production of gluconic acid. It is known that the enzyme D-glycerate dehydrogenase E.C 1.1.1.215 catalyzes an important reaction to produce this. In the present work, the above-mentioned protein was structurally analyzed by using available bioinformatics tools. A homology modeling was carried out, and a not previously reported structure for the microorganism was obtained. This finding allows further study of the function and its interactions with other proteins in depth and its possible biotechnological applications.

KEYWORDS: D- glycerate dehydrogenase, Modeling homology, *Paenibacillus mucilaginosus*, Potassium

INTRODUCCIÓN

El potasio (K) es el séptimo elemento más abundante en la corteza terrestre, su contenido total en suelos varía entre 0,04 y 3%, pero, a pesar de esto, solo se encuentra disponible del 1 al 2% para las plantas (1); en éstas representa entre el 2 y el 10% de su peso seco y su concentración citoplasmática óptima es de aproximadamente 100mM, esto, para el desarrollo ideal de las actividades enzimáticas. Este catión (K^+) es de gran importancia en la nutrición vegetal y juega un papel determinante en diferentes procesos fisiológicos y metabólicos, como el crecimiento, nodulación, apertura del estoma y adaptación a cambios ambientales. Además se ha logrado definir que, el mantenimiento de la concentración de K^+ en la célula vegetal es vital para su funcionamiento, pues sin un suministro adecuado de este elemento, el desarrollo de las raíces y semillas de las plantas se ve afectado, lo que tendrá un impacto posterior en el rendimiento de estas (2,3).

Se ha establecido que una amplia gama de bacterias, incluyendo promotoras del crecimiento de las plantas (BPCV), juegan un papel primordial en el ciclo del potasio, entre los géneros y especies mejores establecidos encontramos: *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Paenibacillus mucilaginosus*, *Bacillus edaphicus*, *Bacillus circulans* y *Paenibacillus sp.* Se conoce que estas logran una liberación del potasio de estructuras minerales que

lo contienen, convirtiéndolo en un elemento accesible para las plantas (4).

Actualmente, son diferentes los mecanismos descritos en la literatura involucrados en la solubilización del potasio de minerales como la mica, illita y ortoclasa, por bacterias solubilizadoras del potasio (BSK), entre estos, la disminución del pH, quelación de cationes unidos al K, reacciones de intercambio, producción de una gama de ácidos orgánicos (acidólisis), entre los que se encuentran el ácido succínico, cítrico, glucónico, α -cetoglucónico y oxálico; además, se ha reportado que la producción de polisacáridos capsulares ayuda a la disolución de estos minerales para liberar el potasio (figura 1)(5) nitrogen, iron and potassium are some compounds necessary for plant growth and development; chemical fertilizers used to increase concentration significantly affect the environment and soil ecosystems. According to the scientific literature, microorganisms with biofertilizer potential have demonstrated various mechanisms of action to solubilize these compounds and thus meet the requirements of plants. This systematic review collects scientific information that describes the mechanisms of action of microbial fertilizers in agricultural soils, published between 2004 and 2014, in three different databases; ScienceDirect, SpringerLink and Scopus, using the search path (biofertilizer. La utilización de BSK se ha convertido en un aspecto destacable para aumentar el contenido del K soluble en suelo y

aumentar el rendimiento de las plantas (6) and deficiency of K usually results in a decrease in crop yields. The utilization of potassium-solubilizing bacteria (KSB).

Específicamente *Paenibacillus mucilaginosus*, un bacilo Gram negativo hallado de manera común en el suelo, ha demostrado ampliamente su capacidad como solubilizador de potasio, aumentando su disponibilidad en suelos agrícolas y su contenido mineral en la planta; se conoce que este aumenta la tasa de disolución de silicato y aluminio en minerales de silicato liberando el K⁺ por la producción de ácidos orgánicos, principalmente ácidos como el glucónico, oxálico y el cítrico, sin embargo, también acelera la disolución de una amplia gama de silicatos mediante la generación de polisacáridos extracelulares (EPS).

Se ha logrado establecer que el ácido glucónico (GA) tiene la capacidad de formar complejos bidentados con iones metálicos, siendo más efectivos que la disolución por ligandos monodentados, al mismo tiempo, la bacteria produce polisacáridos que pueden combinarse con los minerales formando el complejo mineral-bacteriano, se ha logrado determinar que los polisacáridos adsorben de manera fuerte ácidos orgánicos provocando una alta concentración de estos en el área circundante del mineral, siendo este parcialmente degradado por efecto de los ácidos orgánicos presentes. Por otra parte, los polisacáridos

absorben de igual manera el SiO₂; la alteración en la concentración de este último compuesto afecta el equilibrio entre las fases mineral y fluida, que conducen finalmente a la solubilización de SiO₂ y K⁺ obteniendo una mayor degradación de los minerales. La disputa entre estos mecanismos ha generado una limitación severa en el uso de este microorganismo en la agricultura como fertilizante biológico de K (7,8)

La producción de ácido glucónico por parte de la mayoría de las cepas de *Paenibacillus* está mediada por genes que codifican las enzimas glucosa-1-deshidrogenasa y ácido glucónico deshidrogenasa (9). Sin embargo, la D-glicerato deshidrogenasa E.C 1.1.1.215, identificada principalmente en bacterias del género *Gluconobacter*, *Hyphomicrobium*, *Acetobacter*, *Pseudomonas* y *Escherichia coli* (10) 4-diacetylphloroglucinol (DAPG; ha sido reportada en la ruta de la pentosa fosfato de *Paenibacillus mucilaginosus* K02 logrando catalizar la reducción reversible del 2-deshidro-D-gluconato y la oxidación del D-gluconato, codificada por el gen B2K_RS16595 con una longitud de 322 aminoácidos.

El objetivo de este artículo es, mediante herramientas bioinformáticas tales como KEGG (11), GenBank (12), BLAST (13), Clustal (14), y SWISS-MODEL (15), dar una visión general de una ruta alternativa para la producción de ácido glucónico por parte de *Paenibacillus mucilaginosus* y evaluar

la estructura proteica de la D-glicerato deshidrogenasa y su importancia en el mecanismo de la solubilización del potasio inorgánico.

METODOLOGÍA

1. Determinación de la existencia de la proteína en la ruta metabólica de la producción de ácido glucónico

Haciendo uso de la base de datos KEGG Pathway (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) (11) se logró determinar la existencia de la ruta metabólica de *Paenibacillus mucilaginosus* K02 de la producción de ácido glucónico (C00257) y se identificó la presencia de la enzima E.C 1.1.1.215 en la vía metabólica.

2. Búsqueda de la secuencia de la proteína D-glicerato deshidrogenasa de *Paenibacillus mucilaginosus* K02

Con el uso de la plataforma NCBI-GenBank nucleotide (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (12) se realizó la búsqueda del gen de interés. Se utilizó el genoma completo de *Paenibacillus mucilaginosus* K02 (NC_017672.3) y se estimó la secuencia correspondiente al gen B2K_RS16595 que codifica la enzima D- glicerato deshidrogenasa (WP_014370153.1).

3. Alineamiento múltiple

Al tener la secuencia que codifica la proteína de interés identificada, con la

ayuda de la herramienta BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (13) basic local alignment search tool (BLAST para lograr una identificación de secuencias homologas. Con los resultados obtenidos, se extrajeron las secuencias correspondientes a otras especies del género *Paenibacillus* para llevar a cabo de manera posterior un alineamiento múltiple en el programa Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) (14), con el fin de identificar el grado de diversidad de la proteína dentro del género.

4. Evaluación de la estructura proteica y modelamiento tridimensional

A partir de la secuencia proteica para la D-glicerato deshidrogenasa de *Paenibacillus mucilaginosus* K02 se llevó a cabo un proceso de modelamiento por homología con el uso de la aplicación de acceso libre SwissModel (<https://swissmodel.expasy.org/>) (15). Para la visualización de todas las estructuras tridimensionales se utilizó el programa RasMol (16).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La secuencia de proteína correspondió a la referencia WP_014370153.1 de NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) correspondiente a la D-glicerato deshidrogenasa [*Paenibacillus mucilaginosus*] El alineamiento en BLAST permitió la identificación de otras 3 secuencias relacionadas. Las secuencias identificadas fueron: *P. elgii* (WP_127460897.1), *P.*

mucilaginosus KNP414 (AEI41575.1), *P. mucilaginosus* (WP_041617833), y *P. mucilaginosus* (WP_014370153.1), con estas secuencias se realizó el alineamiento múltiple (Figura 2). El árbol filogenético (Figura 3), fue útil para asociar la relación de dichas especies mediante una representación gráfica.

De acuerdo con los resultados del programa SWISS-MODEL para la secuencia de *P. mucilaginosus*, se identificó que la mejor secuencia molde para realizar el modelamiento por homología es la correspondiente a la **glioxilato reductasa** en *Pyrococcus yayanosii* (PDB ID: 6BII). Esta molécula presentó la mayor similitud a la secuencia de D-glicerato deshidrogenasa con un porcentaje de identidad de 47.08% y un GMQE de 0.79, este valor el cual se define como la “Estimación de la calidad del modelo global” es una estimación de la calidad que combina las propiedades de la alineación objetivo-plantilla y la estructura de la plantilla. La puntuación GMQE resultante se expresa como un número entre 0 y 1, lo que refleja la precisión esperada de un modelo construido con esa alineación y plantilla, normalizada por la cobertura de la secuencia objetivo. Los números más altos en general indican una mayor confiabilidad (15).

El diagrama de Ramachandran muestra que el 78.4% de los residuos totales están ubicados en las regiones permitidas, el 19.4% están en la región adicionalmente permitida, y solo el 1.1% están ubicados en regiones atípicas o no

permitidas. Este diagrama fue creado para visualizar todas las combinaciones posibles de ángulos diédricos Ψ (psi) contra Φ (phi) en los aminoácidos de un polipéptido, y que contribuyen a la conformación de la estructura de las proteínas. Este gráfico permite, por lo tanto, aproximar *a priori* cuál será la estructura secundaria del péptido, ya que existen combinaciones de ángulos típicas para cada estructura (α -hélice y hoja β). La conformación de los péptidos se define mediante la asignación de valores para cada par de esquinas Φ_i , Ψ_i para cada aminoácido. En el segundo cuadrante se hallan las combinaciones de la hoja β , en el tercer cuadrante se hallan la hélice α derecha y los giros o bucles (loops); en el primer cuadrante las combinaciones de la hélice α izquierda (17).

Con el fin de llevar a cabo la validación del modelo predicho, se llevó a cabo un análisis de validación estructural, utilizando la aplicación Prosa-Web. Como resultado de la calidad del modelo total se obtuvo un puntaje Z de -9.57, el cual como se observa en la figura 5 se encuentra en el rango de las conformaciones nativas. Además, se llevó a cabo un análisis con la herramienta Verify 3D, la cual confirmó los resultados obtenidos con la aplicación Prosa-web. Verify 3D arrojó un resultado de 95.45% de los aminoácidos tenían un valor mayor o igual a 0,2 con lo cual se verifica que la estructura es de alta calidad y existe coherencia entre la secuencia y la estructura modelada (Datos no mostrados).

Con el fin de predecir la estructura secundaria propuesta para la secuencia de la D-glicerato deshidrogenasa en *P. mucilaginosus* y confirmar los resultados observados en el diagrama de Ramachandran se utilizó la aplicación PSIPRED.

Los resultados mostraron que la proteína D-glicerato deshidrogenasa contiene: 13 tramos de aminoácidos con tendencia a formar hojas beta, 16 tramos de aminoácidos con tendencia a formar hélices alfa (Figura 8).

Esta enzima pertenece a la familia de las oxidorreductasas, concretamente las que actúan sobre el grupo CH-OH del donante con NAD + o NADP + como aceptor. El nombre sistemático de esta clase de enzimas es (R) -glicerato: NAD + oxidorreductasa . Otros nombres de uso común incluyen D-glicerato deshidrogenasa e hidroxipiruvato reductasa (debido a la reversibilidad de la reacción). Esta enzima participa en el metabolismo de la glicina, serina y treonina, además del metabolismo de glioxilato y dicarboxilato (18).

Las D-glicerato deshidrogenasa hacen parte de una superfamilia más grande de enzimas conocidas como D-2-hidroxiácido deshidrogenasas. Muchos organismos, desde *Hyphomicrobium methylovorum* hasta humanos, tienen alguna forma de proteína glicerato deshidrogenasa. Actualmente, existen varias estructuras que se han clasificado para esta clase de enzima, incluidas las de las dos

mencionadas anteriormente con el código de acceso PDB 1GDH , D-glicerato deshidrogenasa y el homólogo humano Glioxilato reductasa / Hidroxipiruvato reductasa (GRHPR), 2WWR (19).

Diversos estudios han permitido comprender mejor la estructura y función de estas enzimas. Se ha demostrado que estas proteínas son enzimas homodiméricas (18). Esto significa que 2 proteínas idénticas están unidas formando un complejo más grande. El sitio activo se encuentra en cada subunidad entre los dos dominios globulares $\alpha / \beta / \alpha$ distintos, el dominio de unión al sustrato y el dominio de unión a la coenzima. Este dominio de unión a coenzimas es ligeramente más grande que el dominio de unión al sustrato y contiene un pliegue de NAD (P) junto con el “*bucle de dimerización*” que mantiene unidas las dos subunidades del homodímero. Además de unir las dos proteínas, el “*bucle de dimerización*” de cada subunidad sobresale hacia el sitio activo de la otra subunidad aumentando la especificidad de la enzima, al evitar la unión del piruvato como sustrato. El hidroxipiruvato aún puede unirse al sitio activo debido a la estabilización adicional de los enlaces de hidrógeno con los aminoácidos vecinos (residuos ácidos) (18,19).

CONCLUSIONES

Las herramientas bioinformáticas aplicadas pueden ser de gran utilidad para constituir el primer paso hacia la investigación métodos experimentales actua-

lizados que permitan llevar a cabo el desarrollo de nuevos productos de origen biotecnológico que involucren proteínas involucradas en el mecanismo de la solubilización del potasio como la D- glicerato deshidrogenasa, que generen un impacto en el bienestar y la promoción del crecimiento de las plantas fortaleciendo un mercado existente.

Por otra parte, cabe mencionar la importancia de técnicas como el modelamiento por homología que permite la identificación de estructuras 3D de proteínas no reportadas que pueden tener un impacto en importantes mecanismos como el ya mencionado con anterioridad.

REFERENCIAS

1. Etesami H, Emami S, Alikhani HA. Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects - a review. *J Soil Sci Plant Nutr*. 2017;17(4):897–911.
2. Meena VS, Maurya BR, Verma JP. Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils? *Microbiol Res*. 2014;169(5–6):337–47.
3. Kumar A, Patel JS, Bahadur I, Meena VS. The Molecular Mechanisms of KSMs for Enhancement of Crop Production Under Organic Farming. In: *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*. New Delhi: Springer India; 2016. p. 61–75.
4. Jaiswal DK, Verma JP, Prakash S, Meena VS, Meena RS. Potassium as an Important Plant Nutrient in Sustainable Agriculture: A State of the Art. In: *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*. New Delhi: Springer India; 2016. p. 21–9.
5. Restrepo-Correa SP, Pineda-Meneses EC, Ríos-Osorio LA. Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: Una revisión sistemática. *Corpoica Cienc y Tecnol Agropecu*. 2017;18(2):335–51.
6. Dong X, Lv L, Wang W, Liu Y, Yin C, Xu Q, et al. Differences in distribution of potassium-solubilizing bacteria in forest and plantation soils in myanmar. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(5):1–14.
7. Raghavendra MP, Chandra Nayaka S, Nuthan BR. Role of Rhizosphere Microflora in Potassium Solubilization. In: *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture*. New Delhi: Springer India; 2016. p. 43–59.
8. Liu W, Xu X, Wu X, Yang Q, Luo Y, Christie P. Decomposition of silicate minerals by *Bacillus mucilaginosus* in liquid culture. *Environ Geochem Health*. 2006;28(1–2):133–40.
9. Grady EN, MacDonald J, Liu L, Richman A, Yuan Z-C. Current knowl-

- edge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microb Cell Fact*. 2016 Dec;15(1):203.
10. de Werra P, Péchy-Tarr M, Keel C, Maurhofer M. Role of Gluconic Acid Production in the Regulation of Biocontrol Traits of *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *Appl Environ Microbiol*. 2009 Jun;75(12):4162–74.
 11. Kanehisa M. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2000 Jan 1;28(1):27–30. Available from: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/28.1.27>
 12. Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, et al. GenBank. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2012 Nov 26;41(D1):D36–42. Available from: <http://academic.oup.com/nar/article/41/D1/D36/1068219/GenBank>
 13. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* [Internet]. 1990 Oct 5;215(3):403–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2231712>
 14. Madeira F, Park Y mi, Lee J, Buso N, Gur T, Madhusoodanan N, et al. The EMBL-EBI search and sequence analysis tools APIs in 2019. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2019 Jul 2;47(W1):W636–41. Available from: <https://academic.oup.com/nar/article/47/W1/W636/5446251>
 15. Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res*. 2018 Jul;46(W1):W296–303.
 16. Sayle R. RASMOL: biomolecular graphics for all. *Trends Biochem Sci*. 1995 Sep;20(9):374–6.
 17. Ramachandran GN, Ramakrishnan C, Sasisekharan V. Stereochemistry of polypeptide chain configurations. Vol. 7, *Journal of Molecular Biology*. 1963. p. 95–9.
 18. Goldberg JD, Yoshida T, Brick P. Crystal structure of a NAD-dependent D-glycerate dehydrogenase at 2.4 Å resolution. *J Mol Biol*. 1994 Mar;236(4):1123–40.
 19. Booth MPS, Connors R, Rumsby G, Brady RL. Structural Basis of Substrate Specificity in Human Glyoxylate Reductase/Hydroxypyruvate Reductase. *J Mol Biol*. 2006 Jun;360(1):178–89.

FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de solubilización de potasio por BSK Adaptada de: (4)

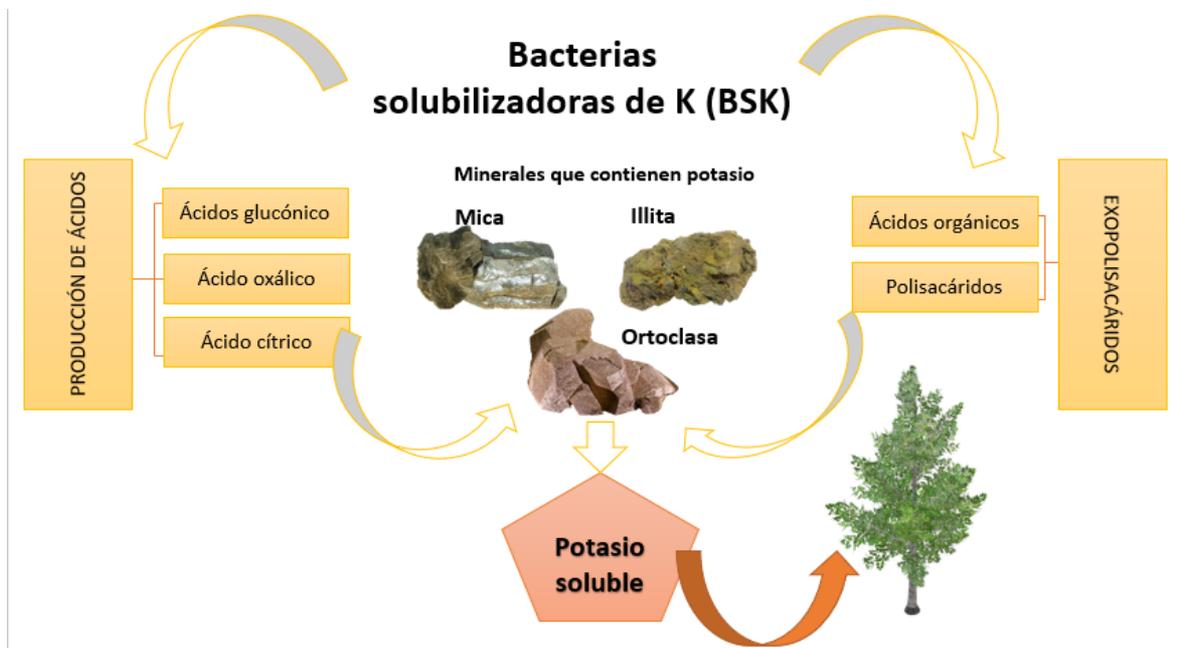


Figura 2. Alineamiento múltiple de Clustal Omega de las secuencias relacionadas a la D-glicerato deshidrogenasa.

```

WP_127460897.1:1-330 ---MSKPKIYISKADPEALAVLEQHCCEKMDGGQASRQGLLAEHQVEGLTTGGPI 57
WP_014370153.1:1-332 --MMPKPKVYISKDPAQVLSYLEEYCECKMDGGSGASRQGLLAEHQVEGLTTGGPI 57
AEI41572.1:1-335 METVAKPKVYISKDPAQVLSYLEEYCECKMDGGSGASRQGLLAEHQVEGLTTGGPI 60
WP_0401617833.1:1-332 ---MMPKPKVYISKDPAQVLSYLEEYCECKMDGGSGASRQGLLAEHQVEGLTTGGPI 57
::*:*** ** :;*:***:***:*** * *****:*****

WP_127460897.1:1-330 IRELLDHPKELRAVSSISVGYNHFIDAPKARRVIGETNTPHVDLETVAQVLSLMLSAAR 117
WP_014370153.1:1-332 DAELLQHPKELRAVSSISVGYNHFIDAPKTRIGVLGHPYVLDOTVAQVLSLMLASAR 117
AEI41572.1:1-335 DAELLQHPKELRAVSSISVGYNHFIDAPKTRIGVLGHPYVLDOTVAQVLSLMLASAR 120
WP_0401617833.1:1-332 DAELLQHPKELRAVSSISVGYNHFIDAPKTRIGVLGHPYVLDOTVAQVLSLMLASAR 117
; **:******:***:*** ** :;*:***:***:*** * *****:*****

WP_127460897.1:1-330 RPELDAPVKEGKQKRGKGLTDEDFGMDVHHQPLGIIQNGRIGEAIAKRAWHGFQMSLL 177
WP_014370153.1:1-332 RVPELDAPVKEGKQKRGKGLKEEDFFGMDVHHATIGIIGNGRIGEAIAKRAWHGFQMSLL 177
AEI41572.1:1-335 RVPELDAPVKEGKQKRGKGLKEEDFFGMDVHHATIGIIGNGRIGEAIAKRAWHGFQMSLL 180
WP_0401617833.1:1-332 RVPELDAPVKEGKQKRGKGLKEEDFFGMDVHHATIGIIGNGRIGEAIAKRAWHGFQMSLL 177
*:******:***:*** ** :;*:***:***:*** * *****:*****

WP_127460897.1:1-330 YNIRSRKPEEERFGAQCGLDELLRESDFVWHITLPTETMRIRLHPFEMKPTAFFI 237
WP_014370153.1:1-332 YNIRTRKPEAEERFGAQVYVTEELLRRSDFVWLHTFLTAETIKHYFRKEHFLNKPTAFFI 237
AEI41572.1:1-335 YNIRTRKPEAEERFGAQVYVTEELLRRSDFVWLHTFLTAETIKHYFRKEHFLNKPTAFFI 240
WP_0401617833.1:1-332 YNIRTRKPEAEERFGAQVYVTEELLRRSDFVWLHTFLTAETIKHYFRKEHFLNKPTAFFI 237
*:******:***:*** ** :;*:***:***:*** * *****:*****

WP_127460897.1:1-330 NASRQKTVDEPALIQALQGLIRGAGLDVDFPEPPQDNPLLSHPNVVTLPHIGSATAKT 297
WP_014370153.1:1-332 NASRQKTVDEAALIKALRSGRIRGAGLDVDFPEPPQDNPLLSHPNVVTLPHIGSATEKT 297
AEI41572.1:1-335 NASRQKTVDEAALIEALRSGRIRGAGLDVDFPEPPQDNPLLSHPNVVTLPHIGSATEKT 300
WP_0401617833.1:1-332 NASRQKTVDEAALIEALRSGRIRGAGLDVDFPEPPQDNPLLSHPNVVTLPHIGSATEKT 297
*****:*** ** :;*:***:***:*** * *****:*****

WP_127460897.1:1-330 RLDMMILAAARNLVVALTGGHPHYVPELLE-- 330
WP_014370153.1:1-332 RFDMMILAAARNLVVALTGGRPPHYKELADLVESR 332
AEI41572.1:1-335 RFDMMILAAARNLVVALTGGRPPHYKELADLVESR 335
WP_0401617833.1:1-332 RFDMMILAAARNLVVALTGGRPPHYKELADLVESR 332
*:******:***:*** ** :;*:***:***:*** * *****:*****
    
```

Figura 3. Árbol filogenético obtenido después del alineamiento múltiple en Clustal Omega

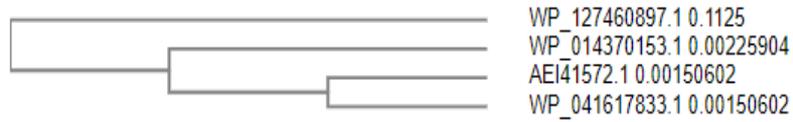


Figura 3. Ruta metabólica obtenida de la base de datos del KEGG sobre el proceso de solubilización de potasio

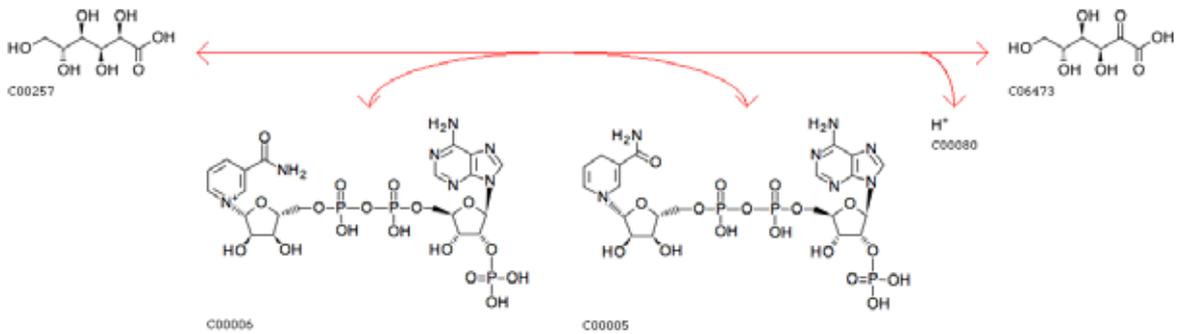


Figura 4. Estructura tridimensional de Glioxilato reductasa de *Pyrococcus yayanosii* PDB ID: 6BII

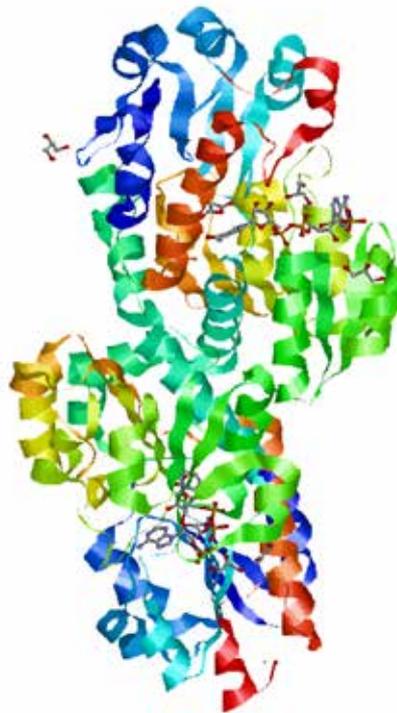


Figura 5. Estructura tridimensional predicha para la D-glicerato deshidrogenasa de *P. mucilaginosus* visualizada en RasMol.

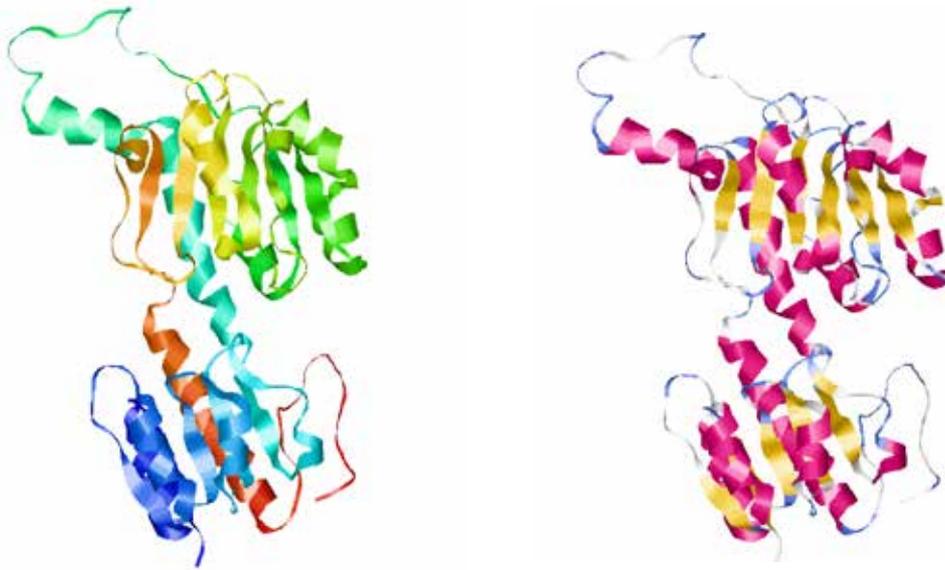


Figura 6. Diagrama de Ramachandran, arrojado por el programa *SWISS-MODEL*, en el que se muestra la presencia de cada uno de los aminoácidos de la secuencia en las regiones permitidas y no permitidas, para las diferentes estructuras secundarias en la D-glicerato deshidrogenasa de *P. mucilaginosus*.

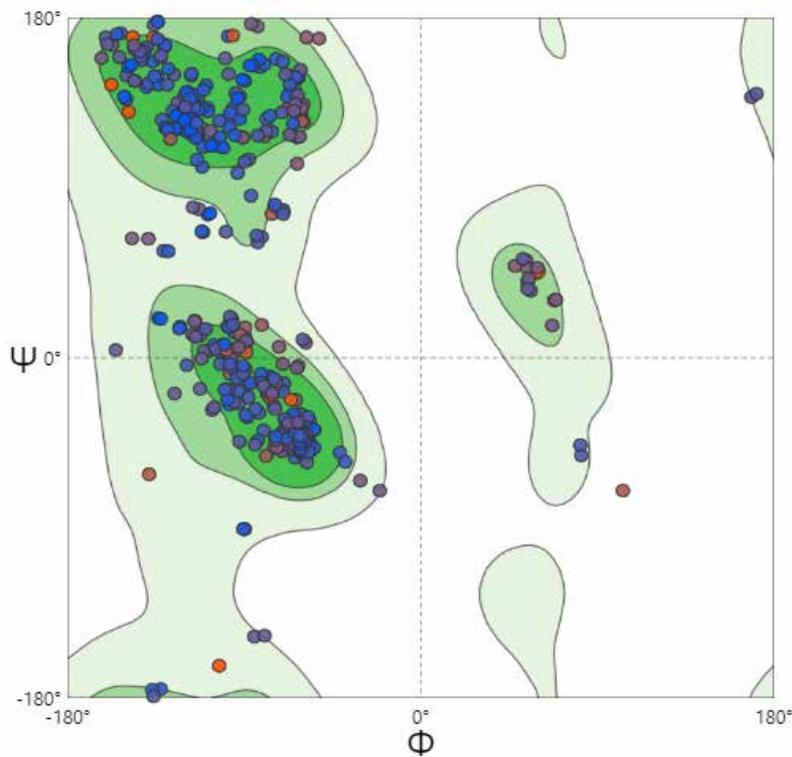


Figura 7. Validación de la calidad total del modelo a través del puntaje Z de modelo predicho llevado a cabo en Prosa web.

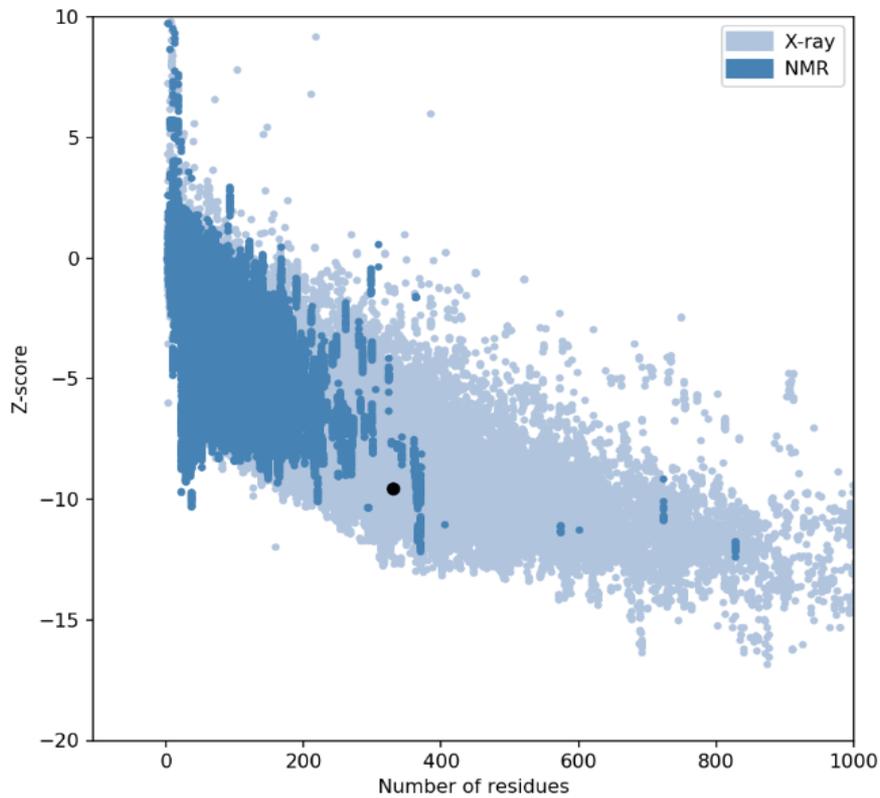


Figura 8. Gráfico de secuencia y relación con la estructura secundaria para la enzima D-glicerato deshidrogenasa en *P. mucilaginosus* utilizando la aplicación PSIPRED. En amarillo se identifican los residuos con tendencia a formar hojas beta, en rosa los residuos con tendencia a formar hélices alfa y en gris se muestran los residuos sin tendencia específica a formar una estructura secundaria.

