

Metagenómica y metatranscriptómica aplicadas al estudio de Chloroflexota en sistemas de tratamiento de aguas residuales escala real

Patricia Bovio-Winkler¹, Leandro D. Guerrero², Leonardo Erijman², Angela Cabezas³, Claudia Etchebehere¹

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay

² Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular "Dr Héctor N. Torres" (INGEBI-CONICET), Buenos Aires, Argentina

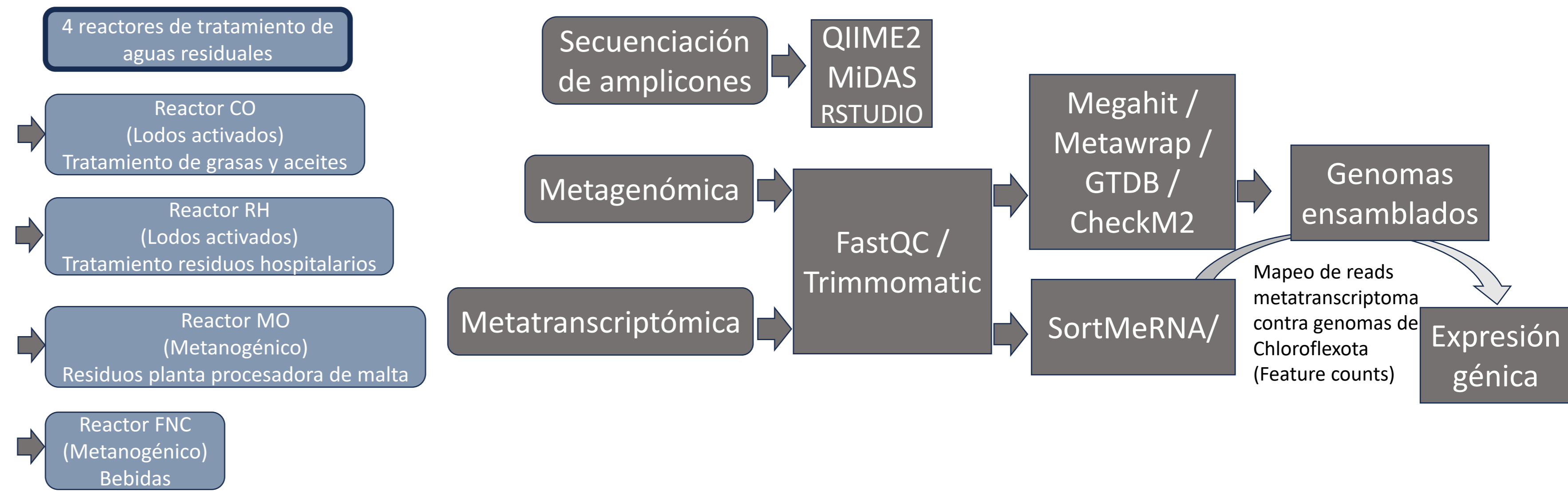
³ Instituto Tecnológico Regional Centro Sur, Universidad Tecnológica, Durazno, Uruguay

INTRODUCCION

- El filo Chloroflexota es uno de los grupos predominantes en sistemas de tratamiento de aguas residuales aerobios y anaerobios.
- Su rol aún sigue sin conocerse debido a que son difíciles de aislar en cultivo puro.
- Se ha postulado que están involucrados en la formación de gránulos y flóculos en sistemas de tratamiento.
- Su sobrecrecimiento genera problemas de sedimentación de la biomasa (bulking).
- Las condiciones que favorecen su sobrecrecimiento aun no se han podido determinar.

OBJETIVOS Conocer la diversidad y rol funcional de organismos no cultivados del filo Chloroflexota en sistemas de tratamiento de aguas residuales mediante el análisis de metagenomas y metatranscriptomas

METODOS



RESULTADOS

Estudio de la diversidad por secuenciación masiva del gen de ARNr de 16S

1 Chloroflexota es uno de los filos más abundantes en los 4 reactores

Total community- Phylum	Activated sludge 1				Activated sludge 2				Methanogenic 1				Methanogenic 2										
	CO1	CO2	CO3	CO4	CO5	CO6	RH7	RH8	RH9	RH10	RH11	RH12	FNC1	FNC2	FNC3	FNC4	FNC5	MO4	MO5	MO6	MO7	MO8	MO9
Proteobacteria	88.8	86.6	65.9	82.5	73.5	28.5	44.8	20.2	51.3	27.5	48.3	29.3	0.3	1.3	2	1.8	0.7	3	2.8	3.7	2.4	5	4.9
Firmicutes	0.5	2.1	7.7	2.4	0.8	0.8	1.1	0.6	0.5	0.8	0.4	0.6	18.4	12.4	10.2	17.9	8.3	47.1	49.5	48.1	54.8	34.9	50.9
Synergistota	0.1	0.5	1.2	0.5	0.1	0.2	0.3	0.1	0	0.1	0	0	39.2	32	33.4	21	14.1	31.4	31.6	25.7	25.5	30.5	15.7
Chloroflexi	2.9	1.6	0.7	1.7	4.5	8.3	10.6	11.4	15	41.6	12.2	1.3	9.6	5.2	6.8	11.4	9.6	5	5.6	5.7	6	5	2.3

Figura 1 Secuenciación masiva del gen de ARNr 16S. Diversidad de la comunidad microbiana a nivel de filo para los 4 sistemas de tratamiento de aguas residuales

2 La clase Anaerolineae predomina dentro del filo Chloroflexota

Total Chloroflexi- Class	Activated sludge 1						Activated sludge 2						Methanogenic 1					Methanogenic 2					
	CO1	CO2	CO3	CO4	CO5	CO6	RH7	RH8	RH9	RH10	RH11	RH12	FNC1	FNC2	FNC3	FNC4	FNC5	MO4	MO5	MO6	MO7	MO8	MO9
Anaerolineae	72.6	61.8	43.8	79.5	48	89.8	91.9	85.8	95.1	98.5	95.4	70.1	99.3	100	98.7	100	100	92.9	93.2	93.8	96.2	95.1	83.5
Chloroflexia	21.1	22.9	34.2	14.7	38.5	5.5	1.9	8.9	3.2	0.9	2.9	5.4	0	0	0	0	0	0.4	1.8	0.5	0	0.5	1.2

Figura 2 Secuenciación masiva del gen de ARNr 16S. Diversidad de la comunidad microbiana a nivel de filo para los 4 sistemas de tratamiento de aguas residuales

3 Ensamblado de genomas de nuevas especies de Chloroflexota

Se ensamblaron 18 genomas de nuevas especies de Chloroflexota, solo 4 cuentan con genomas representativos en las bases de datos

Tabla 1 Estadísticas de los 18 genomas ensamblados de Chloroflexota

Genoma	Complejidad	Contaminación	Tamaño (Mb)	Clase	Orden	Familia	Genero	Especie
CO4	97,11	7,21	7,9	Anaerolineae	Promineofilales	Promineofilaceae	JACSRF01	s_JACSRF01 sp014879875
FNC27	96,6	7,11	2,5	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	UBA4781	s_UBA4781 sp012797975
FNC19	86,89	3,85	1,8	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	T78	s_
MO4	93,34	7,31	5,3	Anaerolineae	CG2-30-64-16	CG2-30-64-16	MWBF01	s_
MO18	84,54	6,87	4,4	Anaerolineae	CG2-30-64-16	CG2-30-64-16	MWBF01	s_
MO49	78,08	3,58	2,4	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	Longilinea	s_
MO51	68,53	2,49	3,2	Anaerolineae	CG2-30-64-16	CG2-30-64-16	MWBF01	s_
MO55	53,29	7,01	1,6	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	Flexilinea	s_
MO72	50,15	2,38	1,2	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	UBA4781	s_
RH16	98,88	3,05	4,7	Anaerolineae	Anaerolineales	EnvOPS12	OLB14	s_
RH70	96,85	1,21	3,7	Anaerolineae	Anaerolineales	EnvOPS12	OLB14	s_
RH47	94,1	1,62	3,8	Dehalococcoidia	Tepidiformales	Tepidiformaceae	41671,0	s_
RH56	85,13	9,4	3,6	Anaerolineae	Anaerolineales	EnvOPS12	OLB14	s_OLB14 sp002343775
RH73	74,39	2,88	5,4	Anaerolineae	Anaerolineales	JABWBV01	JABWBV01	s_JABWBV01 sp013359445
RH61	63,08	5,36	5,0	Anaerolineae	Promineofilales	Promineofilaceae	GCA-2699125	s_
RH81	49,77	5,79	3,4	Anaerolineae	Anaerolineales	UBA6663	SpSt-583	s_
RH15	43,16	1,81	2,1	Anaerolineae	Anaerolineales	EnvOPS12	OLB14	s_
RH82	40,97	0,37	2,5	Anaerolineae	Aggregatilinales	Phototrophicaceae	OLB15	s_

Para determinar funciones metabólicas se anotaron genes con una completitud mayor a 85% (9 genomas en total)

4 Filogenómica y expresión génica

Genomas recuperados de sistemas aerobios expresaron genes para para respiración aerobia y fermentación, además de degradación de acetato y aminoácidos. Mientras que en sistemas anaerobios son fermentadores estrictos, degradación acetato y aminoácidos

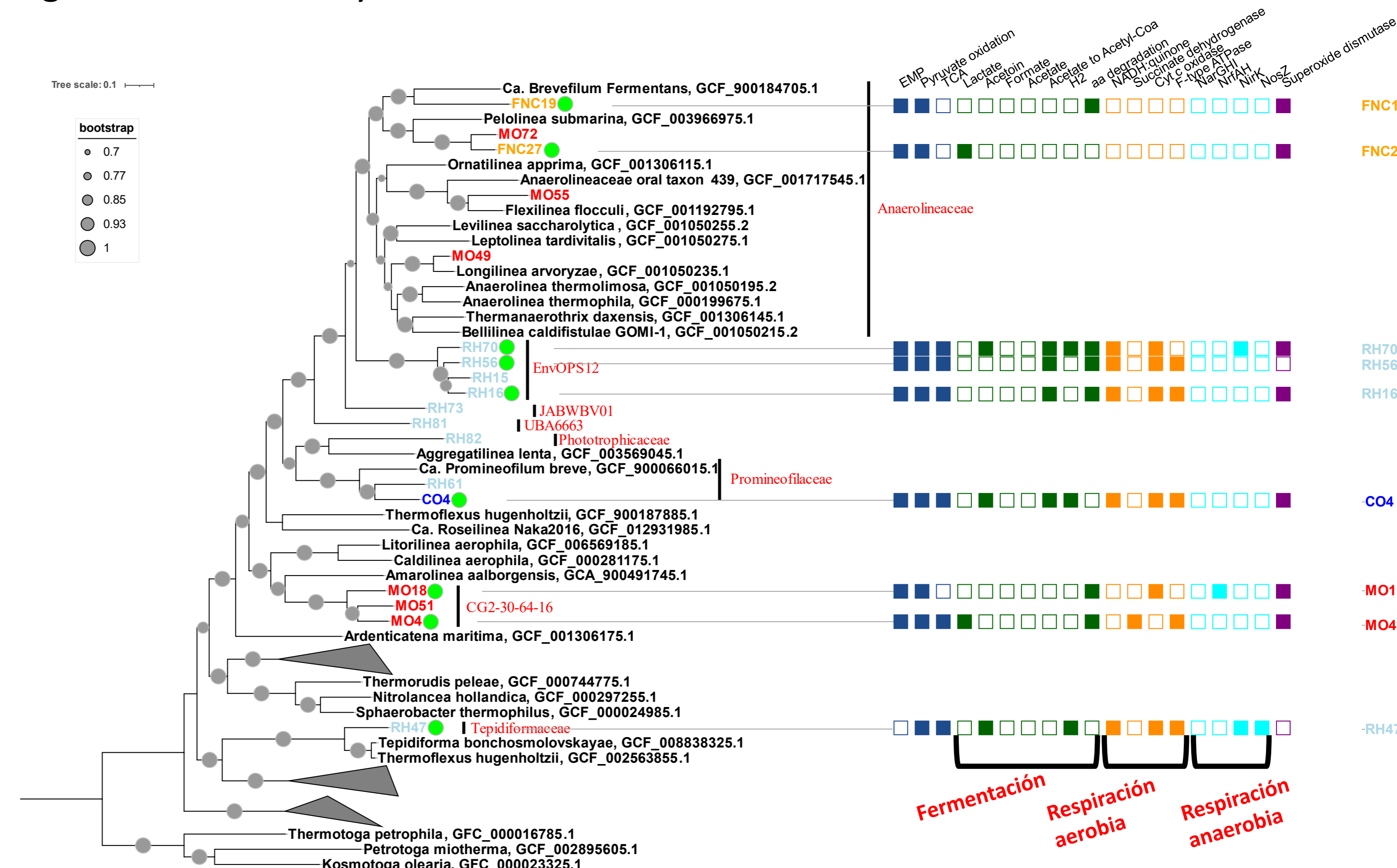


Figura 3 Árbol filogenómico construido con 17 genomas de Chloroflexota ensamblados y 99 genomas de referencia de Chloroflexota. A la derecha se muestra la expresión génica positiva en color según la categoría

CONCLUSIONES

Se ensamblaron e identificaron genomas de 18 nuevas especies de Chloroflexota. En sistemas de tratamiento aerobio cumplen un rol en la degradación de materia orgánica mediante fermentación y/o respiración aerobia. Mientras que en reactores anaerobios son fermentadores estrictos



Dra. Patricia Bovio-Winkler
Email: patricia.bovio@gmail.com
Twitter: @BovioWinkler