



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**

**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa de Bacteriología y Laboratorio clínico
Trabajo de grado
Bogotá D.C. 2022**



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

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
Trabajo de grado
Bogotá D.C 2022**



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

APROBADA _____

JURADOS _____

ASESORES: JAVIER VANEGAS GUERRERO PD
SONIA MARCELA ROSAS ARANGO MSc

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico
Trabajo de grado
Bogotá D.C 2022

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mis padres Luis Bonilla y Maureth Amaya, por tenerme la inmensa paciencia de esperar el día de mi graduación.

A mi hermana Marisol, por darme ánimo de terminar mi proyecto, por tenerme empatía, porque ella sabe que un proyecto de grado no es tan fácil por brindarme su voz de aliento llena de motivación y perseverancia.

A mi compañera de carrera Ensi, por ser paciente y tolerante, muchas gracias, por esa amistad tan bonita, porque hicimos tremendo equipo y logramos sacar el proyecto adelante.

Hasbleidy Bonilla Amaya

Quiero agradecer a mi madre Diocelina Mosquera por todo el apoyo brindado en estos largos años, por su entrega incondicional, por sus consejos y que nunca me dejo desfallecer por más fuerte que fueran las tormentas. A ti debo este logro y muchos de los que vendrán.

A mis hermanos Yohely y John Deivi gracias por su apoyo incondicional, siempre dando una voz de aliento en cada proceso decisivo de mi vida.

A mis tías y primos muchas gracias por acompañarme en esta etapa de conocimiento y crecimiento personal, por cada uno de sus consejos y por heredar esa valentía que nos caracteriza.

A mi amiga Hasbleidy, por todos estos largos años de lucha incansable, a la vida, por reunirnos para realizar este proyecto y por enseñarnos a tolerar y superar las adversidades que se nos presentaron.

Ensi Yaniari Lopez Mosquera

A nuestro asesor de tesis, el profesor Javier Vanegas por tener el doble de paciencia, por su tiempo y dedicación, muchas gracias.

AGRADECIMIENTOS

Le agradecemos a los profesores que han sido parte de este proceso por haber compartido su conocimiento con nosotras.

A la profesora Sonia Rosas por el apoyo al realizar este proyecto.

A la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, por ser el transporte para alcanzar nuestros sueños y a la Universidad Antonio Nariño, por brindarnos la oportunidad de trabajar con ustedes.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN.	12
1. OBJETIVOS	16
1.1 Objetivo general	16
1.2 Objetivo específicos	16
2. ANTECEDENTES	17
3. MARCO REFERENCIAL	20
3.1 Manglar	20
3.2 Proteínas de estrés asociados a microorganismos	21
3.3 Base de escisión de reparación (BER) asociados a microorganismos	21
3.4 Reparación por escisión de nucleótidos (NER) asociados a microorganismos	22
3.5 Reparación de errores de emparejamiento de ADN (MMR) asociados a microorganismos	22
3.6. Recombinación homóloga (NHEJ) asociados a microorganismos	22
3.7 Sistema de secreción bacteriana asociados a microorganismos	23
3.8 Estrés por sequía asociados a microorganismos	23
3.9 Ruta transportadores de ABC asociados a microorganismos.	24
3.10 Quorum sensing asociados a microorganismos.	24
3.11 Estrés oxidativo asociados a microorganismos.	26
3.12 Proteínas de shock térmico asociados a microorganismos.	26
4. DISEÑO METODOLÓGICO	28
4.1 Universo	28
4.1.1 Población	28
4.1.2 Muestra	28
4.2 Hipótesis	28
4.2.1 Variable dependiente	28
4.2.2 Variable independiente	28

4.2.3 Indicador	28
4.2.4 Tipo de investigación.	28
4.3 TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS	29
4.3.1 Descripción del lugar de estudio	29
4.3.2 Extracción de ADN y secuenciación de las muestras	30
4.3.3 Análisis bioinformático y bioestadístico	30
5. RESULTADOS	31
5.1 Ruta transportadores ABC	32
5.2 Quorum sensing.	32
5.3 Recombinación homóloga.	33
5.4 Sistema de secreción bacteriana	34
5.5 Respondedoras de estrés	35
5.6 Reparación de escisión de base (BER)	36
5.7 Reparación de errores de emparejamiento de ADN (MMR)	36
5.8 Reparación por escisión de nucleótidos (NER)	37
5.9 Oxidasa.	38
5.10 Estrés salino.	39
5.11 Esterasa	39
5.12 Chaperonas	40
5.13 Estrés universal	41
5.14 Proteína de choque térmico	41
5.15 Unión de extremos no homólogos (NHEJ)	42
5.16 Superóxido dismutasa	43
6. DISCUSIÓN	44
Sistema respondedoras de estrés asociadas a microorganismos	49
7. CONCLUSIÓN	51
7.1 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Vías metabólicas relacionadas con la respuesta a tensores, diferentes clases de tensión, número de genes reportados en las bases de datos de KEGG y número de genes encontrados para cada vía metabólica	31
Tabla 2. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica en la ruta transportadores ABC en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).	32
Tabla 3. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica del quorum sensing en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).	33
Tabla 4. Conteo (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de la recombinación homóloga en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)	33
Tabla 5. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica en los sistemas de secreción bacteriana en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).	34
Tabla 6. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica a respondedoras de estrés en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).	35
Tabla 7. Conteo (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica a reparación por escisión de bases en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).	36
Tabla 8. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica en la reparación de errores de emparejamiento de ADN (MMR) en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).	37
Tabla 9. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica en la reparación por escisión de nucleótidos en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)	37

Tabla 10. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica a oxidasa en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)	38
Tabla 11. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)	39
Tabla 12. Conteo (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica en esterasa en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)	40
Tabla 13. Conteo (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica a chaperona en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)	40
Tabla 14. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica al estrés universal en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)	41
Tabla 15. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de choque térmico en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)	42
Tabla 16. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica a unión de extremos no homólogos en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)	42
Tabla 17. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica a superóxido dismutasa en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de ubicación, donde se encuentra el manglar en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira	28
---	----

ABREVIATURAS

Símbolo	Término
BER	Base de escisión de reparación
NER	Reparación por escisión de nucleótidos
MMR	Reparación de errores de emparejamiento de ADN
NHEJ	Recombinación de extremos NO homólogos
QS	Quorum sensing
HPS	Heat shock proteins
KO	Kegg Orthology
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

RESUMEN

Los manglares soportan diferentes tensiones por contaminación, nutrientes y fluctuantes cambios de oxígeno y salinidad. En zonas semiáridas, las tensiones se incrementan por los bajos niveles de precipitación, altas temperaturas y radiación. Los microorganismos de estos ecosistemas están adaptados a estas condiciones, sin embargo, son limitados los trabajos de metagenómica que han estudiado la presencia de estos genes en este ecosistema. El objetivo que persigue la presente investigación fue determinar el efecto de la salinidad sobre el recuento de genes asociados a proteínas de estrés en microorganismos de un manglar semiárido del departamento de la Guajira; para ello se obtuvieron muestras de suelo rizosférico concentradas en tres áreas con salinidades contrastantes en el (brazo Riito) del río Ranchería en la Guajira, el ADN total se extrajo y se secuenció mediante Illumina HiSeq 2500. Se detectaron 620 genes asociados a las rutas transportadoras ABC, quorum sensing, recombinación homóloga, sistema secreción bacteriana, respondedoras de estrés, base escisión de reparación (BER) y proteínas de choque térmico, de ellos UNG, ERCC3, XPB, ClpB, xseA, hola, livF estuvieron influenciados por la salinidad alta, GroES, HSPE1, clpA, tres a la media y recC, recA, ClpB, recC, proV a la baja, principalmente asociados a mecanismos de bases de escisión de reparación, choque térmico y reparación por escisión de nucleótidos respectivamente. Finalmente los resultados revelan la influencia de la salinidad sobre las rutas metabólicas que contribuyen a entender la dinámica funcional de proteínas de estrés ambiental del manglar.

Palabras clave: metagenoma, salinidad, tensores, ambientes salinos.

SUMMARY

Mangroves withstand different stresses from pollution, nutrients, and fluctuating changes in oxygen and salinity. In semi-arid zones, stresses are increased by low levels of precipitation, high temperatures and radiation. The microorganisms of these ecosystems are adapted to these conditions; however, there is limited metagenomic work that has studied the presence of these genes in this ecosystem. The objective of this research was to determine the effect of salinity on the count of genes associated with stress proteins in microorganisms of a semi-arid mangrove in the department of Guajira; for this purpose, rhizospheric soil samples were obtained from three areas with contrasting salinities in the Riito arm of the Rancheria river in Guajira, the total DNA was extracted and sequenced using Illumina HiSeq 2500. A total of 620 genes associated with ABC transporter pathways, quorum sensing, homologous recombination, bacterial secretion system, stress responders, base excision repair (BER) and heat shock proteins were detected, of which UNG, ERCC3, XPB, ClpB, xseA, hoiA, livF were influenced by high salinity, GroES, HSPE1, clpA, three at medium and recC, recA, ClpB, recC, proV at low, mainly associated with base excision repair, heat shock and nucleotide excision repair mechanisms respectively. Finally, the results reveal the influence of salinity on metabolic pathways that contribute to understand the functional dynamics of mangrove environmental stress proteins.

Key words: metagenome, salinity, tensors, saline environments.

Estudiantes: Hasbleidy Bonilla Amaya y Ensi López Mosquera

Asesores: Javier Vanegas Guerrero, Universidad Antonio Nariño

Sonia Marcela Rosas Arango, Universidad Colegio Mayor Cundinamarca

Fecha: 1 de abril 2022

INTRODUCCIÓN

Los manglares se consideran como uno de los ecosistemas más fértiles del planeta; crean un entorno ecológico único, biodiverso a lo largo de las costas (1) y representan 181 000 km² de las costas tropicales y subtropicales del mundo (2). Están adaptados a la salinidad, que controla la presencia y la distribución de cada especie, su alta productividad y diversidad biológica (3). Los manglares presentan diversos servicios ecosistémicos como la regulación del clima, aportes de agua salada como dulce (4), protección a las costas de inundaciones ante huracanes y oleajes, evita la erosión del suelo, mantienen el agua limpia al disminuir tanto la fuerza como la velocidad del agua (5) y exporta materia orgánica a ecosistemas costeros (6). También son productores y dosificadores de sedimentos y de materia orgánica a los ambientes continentales y marinos que se encuentran cerca, absorben gran parte de la salinidad de la brisa marina y poseen capacidad de captar nutrientes y metales pesados (3).

Los manglares se encuentran sometidos a fuertes tasas de deforestación, cuatro veces mayor a la de los bosques terrestres (7). Igualmente, los manglares presentan condiciones extremas asociadas a fluctuantes concentraciones de salinidad, oxígeno y nutrientes; y alta radiación y temperaturas (8). Adicionalmente presentan problemáticas relacionadas con los continuos pastoreos de ganado caprino y disposición indiscriminada de residuos sólidos (9). Esto es relevante en los manglares de la Guajira por estar ubicados en una zona semiárida marcadas por condiciones de mínima precipitación, periodos áridos prolongados, alta presión antrópica (10), suelos poco desarrollados, con niveles de humedad bajos, secos, por lo regular salino-sódicos, además cuentan con acumulación de carbonato de calcio (11). Estas condiciones influyen activamente en la composición y desarrollo de estos biomas (2) y la proliferación de microorganismos (8). La hipersalinización es uno de los más importantes aspectos limitantes en la diversidad, estructura y fertilidad de los manglares (2) asociada a la deforestación, características fisiográficas y las temporadas de

lluvia y sequía (11). Se estima que los manglares están desapareciendo a una tasa del 1 a 2% por año. A ese ritmo, los seres humanos perderían pronto los beneficios ecosistémicos que los manglares aportan (6) y el conocimiento de uno de los ecosistemas de mayor diversidad microbiana del mundo.

El establecimiento de los manglares está relacionado con su diversidad microbiana ya que soporta diversas funciones asociadas a la promoción de crecimiento vegetal, ciclaje de nutrientes y tolerancia o resistencia a tensiones de los manglares (12). Las condiciones ambientales del ecosistema como, por ejemplo, la temperatura, son de tensión (4). Las bacterias halotolerantes tienen una participación significativa en la reducción de la tensión por salinidad. Algunos autores (13,3) mencionan que pueden desempeñar papeles importantes en la reducción o adaptación al estrés; estas bacterias responden modificando la abundancia de diversos genes implicados en la biotransformación metabólica central del carbono, en la biosíntesis de nucleótidos y aminoácidos propios del código genético, así como en la reparación del ADN, al igual que en los fenómenos de autorregulación del hierro y la respuesta al estrés oxidativo durante la homeostasis celular (13).

Estas interacciones del microbioma se han explorado mediante herramientas como la metagenómica, que permite visualizar, de manera general, las estructuras de las comunidades, las posibles interacciones ecológicas y el potencial genético (12). Sin embargo, el conocimiento de los microorganismos ante diversos tensores como la salinidad, temperatura, radiación y tensores de oxígeno en los manglares son limitados (14). El objetivo de la presente investigación fue determinar expresión de genes y rutas metabólicas asociadas a condiciones de estrés salino en microorganismos en un manglar semiárido del departamento de la Guajira.

Los manglares son ecosistemas complejos y dinámicos, conformados por un conjunto de especies vegetales pertenecientes a familias como *Avicenniaceae*, *Combretaceae* y *Rhizophoraceae*, cuya distribución está limitada zonas tropicales y subtropicales (15), Los ecosistemas de manglar son considerados de

importancia estratégica en Colombia, pueden almacenar tres o cuatro veces más carbono por área, son fuente de proteína para las comunidades costeras, funcionan como filtros para incrementar así las propiedades inherentes que llevan a caracterizar la calidad de las aguas costeras que desembocan en el océano y aparte de ello, protegen a los arrecifes coralinos (4).

Los factores abióticos a los que están sometidas las bacterias en los manglares dan lugar a presiones selectivas que promueven la activación de mecanismos genéticos y moleculares que favorecen la tolerancia a la salinidad (13). La salinidad se describe por dos vías: La primera es resultado de procesos naturales, que se dan por la cercanía y la altura sobre el nivel del mar, como consecuencia de la descomposición química del material rocoso, en los que se incluye la fractura física de estas, en lo que se denomina la intemperización, al igual que la existencia de sales. Por su parte, la segunda se da como efecto de las propiedades fisicoquímicas propias del suelo, tales como: la textura, la estructura, la porosidad y la permeabilidad (16). Por lo que los suelos salinos naturales son una consecuencia de las mareas altas, que ocurren frecuentemente durante los períodos de huracanes (17).; De igual manera los manglares en condiciones estresantes han ido evolucionando para adaptarse a las nuevas condiciones fisicoquímicas, genéticas y moleculares. Aunque hay pocos estudios, se ha acumulado nueva información en las últimas décadas sobre la regulación genética y molecular de las adaptaciones de los manglares, pero aún no se dispone de una revisión completa (18).

1. OBJETIVOS

1.1 Objetivo general

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

1.2 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.

2. ANTECEDENTES

Cavicchioli. (2000) en su trabajo resalta que los microorganismos expuestos al choque térmico responden de tal manera que inducen proteínas llamadas (chaperonas), resaltando la participación de Archaea, bacterias y eucariotas donde su papel más importante es el desempeño de la síntesis de proteínas adaptadas al frío; y la aplicación de técnicas moleculares a ambientes marinos y de suelo, siendo las más abundantes los microorganismos termófilos e hipertermófilos (19).

Coker (2007) mediante microarrays analizaron los cambios de la expresión génica de *Halobacterium* sp, en condiciones de tensión salina y temperaturas extremas, el crecimiento bajo estrés salino resultó en la modulación de genes que codifican a transportadores de iones, potasio, fósforo, hierro y proteínas protectoras. La baja temperatura afectó la expresión de genes, con cambios sensibles en respuesta al ambiente a nivel de expresión génica(20).

Van Kessel *et al.* (2014) en este trabajo se encontraron bacterias que utilizan quórum para monitorear la densidad celular y alterar el comportamiento en respuesta a las fluctuaciones en la población. Estudios previos con *Vibrio harveyi* habían demostrado que LuxR, el regulador maestro de detección de quórum, activa y reprime >600 genes. Estos incluyen seis genes que codifican homólogos de la *Escherichia coli* Sistemas Bet y ProU (sistema de transporte) para la síntesis y transporte, respectivamente, de glicinabetaína, un osmoprotector utilizado durante la tensión osmótica. LuxR activa la expresión del operón glicinabetaína betIBA-proXWV, que mejora la recuperación del crecimiento en condiciones de tensión osmótica. BetI, un autorrepresor del operón betIBA-proXWV de *V. harveyi*, activa la expresión de genes que codifican pequeños ARN reguladores, a su vez, estos controlan las transiciones de detección de quórum y permiten que *V. harveyi* ejecute comportamientos colectivos de tolerancia a la tensión (21).

Sanchez. (2014) El género *Bacillus* sp. se destaca por tolerar condiciones de estrés abióticos en el suelo y colonizar eficientemente la rizosfera de las plantas,

algunas bacterias de este género alcanzan a tolerar concentraciones mayores a 25 mM de NaCl, por la producción de prolina como osmoregulador en condiciones de estrés por salinidad, también se produjeron exopolisacáridos, los cuales pueden ayudar a mitigar el estrés por salinidad, reduciendo el contenido de Na⁺(22).

Rubiano C. (2014) La bacteria halotolerante *Tistlia consotensis* aislada de un manantial salino presenta tolerancia a cambios extremos de salinidad debido a un porcentaje superior al 60% de G-C que previene la formación de dímeros de timidina generados por los rayos ultravioleta. Ahora bien, dentro de las proporciones de CG, GA/TC, AC/GT, y codones específicos para los aminoácidos treonina, valina y arginina, su función es mantener la estabilidad de las estructuras secundarias y terciarias durante su plegamiento, se demostró que los genomas de organismos halófilos a nivel de los dinucleótidos están conectados con la composición de aminoácidos específicos a proteínas para la adaptación a ambientes salinos. Los microorganismos presentan diferentes adaptaciones al estrés salino, un ejemplo de ellos es en los ambientes marinos que se han encontrado que los géneros *Vibrio*, *Halovibrio* y *Alteromonas* son resistentes a la salinidad por la actividad de la enzima Nqr. Esta enzima mantiene fuera del citoplasma el exceso de Na⁺ y permite así, mantener el gradiente de protones (23).

Ambily (2014) refiere que las proteínas de resistencia al estrés salino y osmótico, mencionando a HSP60, 70 y la expresión de proteínas metabólicas y de reparación de ADN. Así mismo encontró que las bacterias como *Haloferox volcanii* expresan genes cct1 y cct2, que codifican proteínas para 560 y 557 (los cct se han identificado en los dominios archaea y eukarya), en la bacteria *Methanococcus voltae*, realizaron un análisis proteómico, y sus resultados fueron 11 proteínas asociadas a HSP, en las arqueonas hipertermófilas *S.solfataricus*, en su genoma codifica mínimo 26 vapBC de los locis (toxina- antitoxina), de igual manera se requiere más investigación para confirmar el protagonismo de vapBC en su estrés térmico. En la vida oceánica experimenta parámetros físicos, químicos y ambientales extremos; los microorganismos termófilos sobreviven en

condiciones extremas de temperatura, salinidad, presión, desecación; por encima de niveles de tolerancia fisiológica que destruyen la conformación nativa de las proteínas y las hacen perder su función (24).

Phuong *et al.* (2016) el estudio presenta el primer análisis comparativo de metagenomas de comunidades en desiertos hiperaridos cálidos (Namibia) y fríos (Valle de Miers, Antártida). Los filos más abundantes fueron *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Cyanobacteria* y *Bacteroidetes*. Las *Cyanobacterias* dominaron en los hipólitos antárticos. El análisis reveló una divergencia significativa en los determinantes genéticos del metabolismo de aminoácidos y nucleótidos entre estos dos y los del suelo de otros desiertos polares, cálidos y suelos no desérticos. No hubo diferencias representativas entre los dos metagenomas en términos de otras categorías de familias de genes funcionales como osmolaridad, limitación nutricional y estrés proteico (25).

Según lo reportado por Cummings. (2017) los manglares son bosques tolerantes a la sal, que se encuentran en la confluencia de la tierra y el mar de regiones tropicales y subtropicales. Diversos grupos de microorganismos juegan un papel importante en su funcionamiento, productividad y mantenimiento. La comunidad microbiana de los manglares está fuertemente influenciada por el ciclo de los nutrientes y los compuestos orgánicos e inorgánicos en el sedimento. También recibe influencia de variables biogeográficas y ecológicas que incluyen tensores antropogénicos. Consecuentemente, la salinidad y la frecuente condición anaeróbica, derivadas de las mareas, son críticas para la diversidad microbiana. Para identificar las complejidades de los microorganismos y su diversidad genética se necesitan técnicas, como los análisis metagenómicos, que ya se han empleado en aguas marinas, sedimentos, suelos agrícolas y otros entornos extremos (6).

Pedro H, (2017) analizaron las adaptaciones de diferentes microorganismos a condiciones de tensión bioquímica, como oxidación y alquilación, la reducción de la presión de turgencia y la superficie celular. Con mayor frecuencia aparecieron *haloarcheas* GN-2, GN-5, *Halorhabdus hutahensis*, *Halobacterium*,

Halorhodospira halofila, *Salinibacter ruber* y *Salisaeta longa*. Por otra parte los extremohalófilos utilizan osmolitos, para igualar la presión osmótica extracelular, manteniendo así un equilibrio osmótico duradero y así evitar la desnaturalización de proteínas (14).

Alloing (2020) Es así como, *Sinorhizobium meliloti* utiliza una prolina betaína como osmoprotector cuando se encuentra sometido a estrés osmótico, para cumplir su doble función se identificaron dos transportadores de PB, que contribuyen a la captación de PB a alta y baja osmolaridad, además el análisis de secuencia en este microorganismo se reveló la presencia de cuatro genes que codifican los componentes de la ruta ABC, que pertenecen a la familia de oligopéptidos permeasas (Opp), curiosamente se encontró que el estrés salino y el PB controlan la expresión de *prb* de una manera positiva, aumentando el transporte de *prb* (26).

Gregory (2021) reportan que algunas especies de *Vibrio* halotolerantes biosintetizan rápidamente solutos y sistemas de tensión osmótica en respuesta a quorum sensing como las proteínas OpaR, AphA, LuxO, y activador del factor sigma encargado de la traducción en la expresión génica, encontrando involucrado estos genes en la tolerancia al estrés (27).

Llanes (2021) demostró por metagenómica las capacidades metabólicas de tolerancia al estrés como la rotación de transducción de señales y la modificación postraduccional de proteínas en la rizosfera hipersalina como el transportador de glicerol, el metabolismo de la glicina betaína, bombas de protones, la producción de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la peroxidasa (POX) y catalasa (CAT) para contrarrestar el aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS) Algunos endófitos involucrado en este proceso son los géneros *Enterobacter*, *Serratia*, *Microbacterium*, *Pseudomonas* y *Achromobacter* en el suelo (28).

3. MARCO REFERENCIAL

3.1 Manglar

La palabra manglar se emplea para describir un grupo de plantas adaptadas para colonizar suelos anaeróbicos y salinos anegados, en zonas semiáridas los manglares están sometidos a cambios de radiación UV y temperatura. Crecen como árboles o arbustos a lo largo de la mayoría de los estuarios tropicales y costeras protegidos representando una alta relevancia científica, económica y cultural para América Latina y el Caribe (29).

3.2 Proteínas de estrés ambiental asociados a microorganismos

Por lo general, cuando se habla de estrés en términos ambientales, se define como las condiciones, que cambian o exaltan la función del rango habitual de los microorganismos, que pueden causar daños o cambios en el comportamiento biológico del sistema; existen varios tipos de estrés; desde la contaminación de metales pesados, los pesticidas, la lluvia ácida, incluso el cambio climático, y por otra parte existe los factores naturales como la salinidad, las grandes altitudes, el pH, los rayos UV, el shock térmico, pero en particular la salinidad, de hecho algunos microorganismos adoptaron mecanismos especializados a tolerancia de sal, cambiando su fisiología y morfología, un ejemplo es el estrés osmótico, donde la acumulación de solutos de la célula actúa para hacer frente a la presión osmótica, otro claro ejemplo es la respuesta al estrés osmótico, cuando las células a altas concentraciones osmóticas externas provoca una salida de agua desde el interior celular, entonces el contenido de agua disminuye, al igual que la presión de turgencia, el volumen citoplasmático se contrae y la concentración de metabolitos intracelulares se incrementa, por lo general los organismos responden al estrés osmótico incrementando la concentración de solutos (11).

3.3 Base de escisión de reparación (BER) asociados a microorganismos

La reparación por escisión de la base (BER) es la vía de reparación del daño del ADN preeminente para el procesamiento de las pequeñas lesiones de la base,

derivadas de los daños por oxidación y alquilación. La reparación por escisión de la base BER se define normalmente como la reparación del ADN iniciada por las glicosilasas de ADN específicas de la lesión y completada por cualquiera de las dos sub vías: una de ellas es BER de parche corto, lo que quiere decir que solo reemplaza un nucleótido y por otro lado BER de parche largo donde se reemplaza de 2 a 13 nucleótidos; y finalmente cada subruta de BER se basa en la formación de complejos de proteínas que se ensamblan en el sitio de la lesión del ADN y facilitan la reparación de manera coordinada, con el fin de formar complejos que proporcionan un aumento en la especificidad y eficiencia de la vía BER, y así facilitando el mantenimiento de la integridad del genoma prever la acumulación de intermedios de reparación altamente tóxicos (30), (31).

3.4 Reparación por escisión de nucleótidos (NER) asociados a microorganismos

La categoría de reparación por escisión de nucleótidos (NER), es un mecanismo para reconocer y reparar el daño voluminoso del ADN causado por compuestos carcinógenos ambientales y exposición a la luz ultravioleta. La reparación del ADN dañado involucra al menos 30 polipéptidos dentro de dos sub-rutas diferentes de NER conocidas como reparación acoplada a la transcripción (TCR-NER) y reparación global del genoma (GGR-NER). TCR se refiere a la reparación acelerada de lesiones ubicadas en la cadena de genes transcrita activamente por la ARN polimerasa II (RNAP II). En GGR-NER, el primer paso del reconocimiento de daños involucra el complejo XPC-hHR23B junto con el complejo XPE (en procariotas, complejo uvrAB) (32).

3.5 Reparación de errores de emparejamiento de ADN (MMR) asociados a microorganismos.

La categoría de reparación de errores de apareamiento de ADN (MMR) es una vía biológica altamente conservada que juega un papel clave en el mantenimiento de la estabilidad genómica. MMR corrige los desajustes de ADN generados durante la replicación del ADN, evitando así que las mutaciones se vuelvan permanentes en las células en división. MMR también suprime la recombinación

homóloga y recientemente se demostró que desempeña un papel en la señalización del daño del ADN (33).

3.6. Recombinación homóloga (NHEJ) asociados a microorganismos

La recombinación homóloga (HR) es esencial para la reparación precisa de roturas de doble hebra del ADN (DSB), lesiones potencialmente letales. La HR tiene lugar en la fase S-G2 tardía del ciclo celular e implica la generación de una región de ADN de una sola hebra, seguida de la invasión de la hebra, la formación de una unión de Holliday, la síntesis de ADN utilizando la hebra intacta como plantilla, la migración de ramas y resolución. Se investiga que las proteínas de la familia RecA / Rad51 juegan un papel central. La proteína de susceptibilidad al cáncer de mama Brca2 y la helicasa RecQ BLM (síndrome de Bloom mutado) son supresores de tumores que mantienen la integridad del genoma, al menos en parte, a través de la HR (34).

3.7 Sistema de secreción bacteriana asociados a microorganismos

Las bacterias gram negativas secretan una amplia gama de proteínas cuyas funciones incluyen la biogénesis de organelos, como las píldoras y los flagelos, la adquisición de nutrientes, la virulencia y la salida de fármacos y otras toxinas. Se ha demostrado que seis sistemas de secreción distintos median la exportación de proteínas a través de las membranas interna y externa de las bacterias gramnegativas. Estas vías están muy conservadas en todas las especies de bacterias Gram negativas. En las bacterias grampositivas, las proteínas secretadas comúnmente se traslocan a través de la membrana única por la vía Sec o la vía de las dos argininas (Tat) (35).

3.8 Estrés por sequía asociados a microorganismos

Las células procariotas desecantes experimentan una disminución en el área de superficie y un encogimiento de la capa capsular, lo que está relacionado con la rápida pérdida de volumen citoplasmático. Esta pérdida de agua intracelular reduce la presión de turgencia, lo que a su vez da como resultado un aumento de

los iones y metabolitos intracelulares, el apiñamiento de macromoléculas y la disminución de la fluidez (14). Las bacterias responden al estrés xérico a través de varios mecanismos fisiológicos y moleculares distintos pero interrelacionados, que se coordinan temporalmente y dan como resultado un cambio global en los patrones transcripcionales y de traducción de la célula (14).

3.9 Ruta transportadores de ABC asociados a microorganismos.

Los transportadores de cassette de unión a ATP (ABC) forman una de las familias de proteínas más grandes conocidas y están muy extendidos en bacterias, arqueas y eucariotas. Acopla la hidrólisis de ATP al transporte activo de una amplia variedad de sustratos como iones, azúcares, lípidos, esteroides, péptidos, proteínas y fármacos. La estructura de un transportador ABC procarionta generalmente consta de tres componentes; típicamente dos proteínas de membrana integrales, cada una de las cuales tiene seis segmentos transmembrana, dos proteínas periféricas que se unen e hidrolizan ATP, y una proteína de unión a sustrato periplásmica (o lipoproteína). Muchos de los genes de los tres componentes forman operones, como de hecho se observa en muchos genomas de bacterias y arqueas (36).

Las bacterias tienen que hacer frente a diversos cambios, para protegerse de osmolaridad alta, acumulan compuestos osmoprotectores en su citoplasma, llamados solutos compatibles; donde se pueden acumular a niveles muy altos en el citoplasma de la célula estresada sin interferir en sus funciones vitales, por otro lado las bacterias equipadas con este sistema facilitan el transporte de osmoprotectores en condiciones de estrés y varios de estos sistemas se han identificado previamente, como por ejemplo los transportadores de casete a unión a ATP (ABC) y transportadores secundarios (26).

Todos los transportadores ABC reportados hasta ahora en bacterias no halófilas están relacionados con el sistema ProU de *Escherichia coli*, incluyendo, OpuA OpuB y OpuC de *Bacillus subtilis*, OusB de *Erwinia chrysanthemi* y BusA de *Lactococcus lactis*, paralelamente prb es necesaria para la osmoprotección, por él y prb y Bets, no requieren ningún sistema de transporte para la adaptación de

estrés salino a través de la utilización de Pb, finalmente la doble regulación de prb ha llevado a manifestar que esta regulación se produce a nivel transcripcional y responde aumentos de salinidad con la presencia de PB (26).

3.10 Quorum sensing asociados a microorganismos.

La detección de quórum (QS) es un sistema regulador que permite a las bacterias compartir información sobre la densidad celular y ajustar la expresión génica en consecuencia. Todas las bacterias Quorum sensing producen y liberan moléculas de señales químicas llamadas autoinductores (AI) que aumentan en concentración en función de la densidad celular. Los IA más comúnmente estudiados pertenecen a una de las siguientes tres categorías: lactonas de homoserina aciladas, también denominadas AI-1, utilizadas por bacterias Gram negativas; señales peptídicas, utilizadas por bacterias Gram positivas; y AI-2, utilizado por bacterias Gram negativas y Gram positivas. Los procesos controlados por Quorum sensing incluyen virulencia, competencia, conjugación, producción de antibióticos, motilidad, esporulación y formación de biopelículas (36). Cuando las células alcanzan un umbral, el autoinductor se une a los receptores para iniciar una cascada de reacciones que orientan a la expresión o represión de genes, algunas bacterias reductoras de sulfato a inhibidores de QS en condiciones de salinidad disminuye la formación de biopelículas (37).

Inicialmente el proceso de quorum sensing se pensaba muy poco en ambientes extremos, debido a que las moléculas señalizadoras de tipo AHL son termolábiles; Nichols (2009) expone que la temperatura puede mediar la expresión de autoinductores 2 (AI-2), que son moléculas de furanosil borato diester, estos autoinductores han sido propuestos como señales universales, debido a su participación en la comunicación entre distintas especies bacterias gram negativas y positiva, por esta razón los factores ambientales como las altas temperaturas, actúan como agente abiótico causante de fenómenos bioquímicos y microbiológicos en ambientes salinos (38).

Para ilustrar mejor, los sistemas de osmoregulación bacteriana que permite la adaptación a los cambios de osmolaridad extracelular, en condiciones de estrés osmótico, por ejemplo, *Escherichia coli* acumula solutos osmoprotectores que mantienen la homeostasis de la osmolaridad citoplásmica, a menudo, las vías de señalización responsables de la detección de estímulos ambientales están vinculadas a sistemas de detección de quórum bacterianos. Por ejemplo, varias especies bacterianas responden al estrés ambiental, como los cambios en la temperatura, el pH y la disponibilidad de nutrientes, mediante la modulación de los componentes sensibles al quórum, por ejemplo, los vibriones experimentan fluctuaciones en la salinidad en el medio marino y también en huéspedes eucariotas, en varias especies de *Vibrio*, la abundancia bacteriana total a menudo se correlaciona con la salinidad para adaptarse a los cambios en la salinidad, los genomas de los vibrios codifican sistemas de osmoregulación, incluidos los homólogos de los sistemas Bet y ProU de *E. coli* (21).

3.11 Estrés oxidativo asociados a microorganismos.

Estrés oxidativo mediante proteínas similares al Dps. Estas proteínas de unión y almacenamiento de hierro. La proteína osmC participa también en el mecanismo celular de defensa, en respuesta al estrés oxidativo (24). Los daños oxidativos responden también a cambios ambientales que generan ROS y a su vez genera diversas enzimas antioxidantes que alteran el estado redox, los daños oxidativos en proteínas también aparecen cuando alguna de las isoenzimas están expuestas a contaminantes dañando varias biomoléculas, generando productos de peroxidación y productos oxidados, produciendo estrés oxidativo, los ácidos nucleicos se ven afectados mediante la oxidación de nucleótidos, existen dos tipos de mecanismos enzimáticos usados por bacterias, uno de ellos son los sistemas directos que estabilizan a los EROs; como por ejemplo la superóxido dismutasa (SOD), encargada de proteger a las células de ion superóxido produciendo oxígeno molecular y H_2O_2 , y las catalasas encargadas de la transformación directa de O_2 y H_2O_2 y los sistemas indirectos que restauran las biomoléculas dañadas durante el estrés (24).

3.12 Proteínas de shock térmico asociados a microorganismos.

Cuando se alude a organismos se encuentran en estrés se producen reacciones, entre las cuales se encuentran una respuesta de shock térmico, y se van generando proteínas denominadas HSP o heat shock proteins, estas se encuentran en la historia evolutiva de los microorganismos cumpliendo una función en bacterias, levaduras, plantas o animales; cuando una célula se somete a cambios bruscos, como por ejemplo pérdida del equilibrio osmótico, pH, frío, toxinas, presión extrema, metales pesados, entre otros, es decir las fluctuaciones que reciben estos microorganismos al no ser normales para su sistema, se convierte en una reacción como defensa, cuando un factor de estrés es eliminado de la célula se continúa con normalidad el metabolismo; el estrés genera cambios en la conformación terciaria de las proteínas, las despliega, exponiendo sus aminoácidos hidrofóbicos al agua y causa la pérdida de su función, este proceso se conoce como denaturación de la proteína (39).

4. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Universo: Todos los genes presentes en ecosistemas de manglar a nivel global.

4.1.1 Población: Genes asociados a estrés ambiental en ecosistemas de manglar en Colombia.

4.1.2 Muestra: Genes asociados a estrés ambiental en un manglar semiárido del departamento de la Guajira.

4.2 Hipótesis

La salinidad en los manglares influye sobre la diversidad de rutas metabólicas de genes asociados a un manglar semiárido de la Guajira.

4.2.1 Variable dependiente: Rutas metabólicas y genes asociados a estrés ambiental en microorganismos..

4.2.2 Variable independiente: Nivel de salinidad.

4.2.3 Indicador: Conteos de genes asociados a estrés ambiental en microorganismos.

4.2.4 Tipo de investigación: Es un estudio transversal descriptivo, que describe los genes y rutas metabólicas en microorganismos sometidos a estrés ambiental en un manglar semiárido en el departamento de la Guajira, en donde se analiza los datos de variables recopiladas en un periodo de tiempo, sobre una población muestra en este caso suelo del manglar.

4.3 TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

4.3.1 Descripción del lugar de estudio

Este proyecto se realizó en el trabajo de Sepúlveda., et al 2021, donde se describe la recolección total de nueve muestras biológicas, extraídas de plantas de *Avicennia germinans* por ser de más predominancia en ese manglar, las zonas de muestreo fueron recolectadas en baja salinidad, identificada como L ($11^{\circ}33'08.4''N/72^{\circ}53'59.6''W$) salinidad media ($11^{\circ}33'11.4''N/72^{\circ}54'03.5''W$), identificada como M, y ($11^{\circ}33'09.05''N/72^{\circ}54'01.4''W$), como alta salinidad identificada como H (40).

Las zonas de muestreo estaban a 400m de la costa y espaciados 95m y 58 m entre sí, luego en cada zona de muestreo se recolectaron tres plantas de *Avicennia germinans*, para contextualizar las muestras se tomaron de tres zonas del manglar (brazo Riito) del río Ranchería en la Guajira localizado al noroeste de la Guajira. (40)



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

4.3.2 Extracción de ADN y secuenciación de las muestras

Sepúlveda., et al 2021 menciona en su artículo el proceso de extracción del ADN total de las muestras del suelo usando el Power Lyser® Power suelo® kit de aislamiento, QIAGEN Company, Hilden, Alemania), según los protocolos del fabricante. La concentración de ADN se verificó fluorométricamente usando el dsDNA HS Qubit® kit de ensayo (Life Technologies, CA). La integridad del ADN se verificó en gel de agarosa al 0.8%, se seleccionó las muestras con el barrido más bajo, la intensidad más alta de la banda de alto peso molecular y una concentración de >20 mg ml⁻¹. En promedio se obtuvieron concentraciones de 40 ng µl⁻¹ de ADN para la secuencia de escopeta de 150 pb utilizando la plataforma Illumina Hiseq 2500 (Illumina, CA, EE.UU) (40).

4.3.3 Análisis bioinformático y bioestadístico

La calidad de los datos de secuenciación se evaluó en FastQC v0.11.2 (40), seguido del filtrado de calidad y recorte de lectura utilizando una puntuación de Phred <20 con el software TRIMMOMATIC v0.36, utilizando los siguientes parámetros: LEADING:15, TRAILING: 15, SLIDING WINDOW:4:20 Y MINDLEN:100 (40). Las secuencias se alinearon con el software DIAMOND V0.9 (40). Contra la base de datos de proteínas no redundantes del NCBI con umbrales de parámetros BLASTx del 80% de identidad y un valor de 10⁻⁵. Estas secuencias fueron seleccionadas para anotaciones funcionales basadas en KEGG ORTHOLOGY (KO). Una vez normalizados los recuentos de lecturas, se obtuvieron las abundancias relativas de cada gen, teniendo en cuenta el total de genes anotados para la abundancia de salinidad (40).

Las rutas de interés para determinar el conteo de genes asociadas a condiciones de estrés ambiental en microorganismos fueron la reparación por escisión de bases (VER, K03529), chaperonas (K04078), esterases (K01081), estrés salino (K03553), Estrés universal (K06149), Oxidasa (K17285), Proteínas de choque térmico (K03695), quorum sensing (K01996), recombinación Homóloga (K03695), reparación de desajustes (K01589), reparación escisión de nucleótidos (NER, K03694), respondedoras de estrés (K05343), ruta transportadora ABC (K03695),

sistema secreción bacteriana (K06147), superóxido dismutasa (K03601) y unión de extremos no homólogos (K10979).

5. RESULTADOS

Se seleccionaron 16 categorías metabólicas que responden a diferentes tensores ambientales y los genes detectados en el metagenoma de un manglar bajo tres condiciones de salinidad reportados en cada una de las rutas metabólicas.

(Tabla 1).

Tabla 1 Vías metabólicas relacionadas con la respuesta a tensores, diferentes clases de tensión, número de genes reportados en las bases de datos de KEGG y número de genes encontrados para cada vía metabólica

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	614,13	583,3	7,7	*
Base escisión de reparación (BER)	595,10	518,90	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	264,20	216,80	193,4	2,7	**
Estrés salino	101,2	90,1	85,6	1,1	**
Oxidasa	78,0	64,91	56,9	0,8	***
Superóxido dismutasa	58,4	51,950	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	(-)

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

‘5.1 Ruta transportadores ABC

Se detectaron 287 KO en ruta transportadores ABC con las mayores abundancias en K03695, K03924, K17686, K03696 y K03553 con el 23% de los conteos. Estos se asociaron con el transporte de osmoreguladores glicina betaína/prolina (K03695, K03924, K03696); transporte de lipopolisacáridos y iones (K17686)

Transporte de aminoácidos (K03553) livF, reparación del ADN y respuesta al estrés. Las categorías se asociaron al 49% para transporte, 21% translocasa, y al 5% quinasas; la mayoría de los conteos se encuentran en salinidad alta con 23.10%.

Tabla 2.,. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de transportadores ABC en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
proV [EC:7.6.2.9]	Stress response	K03695	182 (3%)	156 (2%)	140 (2%)	478 (7%)	***
proX [EC:3.6.3.-]	Hydrolase	K03924	143 (2%)	121 (2%)	105 (2%)	368 (5%)	***
copA, ctpA, ATP7 [EC: 7.2.2.8]	P-type Cu+ transporter	K17686	104 (1%)	87 (127%)	79 (1%)	270 (4%)	***
proW N/A	Hydrolase	K03696	90 (1%)	82 (1%)	64 (0.9%)	236 (3%)	***
livF N/A	Quorum sensing,DNA damage, DNA repair, stress response	K03553	84 (1%)	69 (1%)	66 (0.9%)	218 (3%)	***

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.

5.2 Quorum sensing.

Se detectaron 67 KO, de los cuales las de mayor abundancia fueron K03070, K02032, K03076, K01996 y K02033 con el 35.38% de los conteos. El primer K03070, es una enzima secA; preprotein translocase subunit SecA [EC:7.4.2.8], con función biológica de sistema de secreción bacteriana y proteínas de exportación. K02032 es una enzima ddpF; peptide/nickel transport system ATP-binding protein, con actividad de ATPasas, K03076, secY; preprotein translocase subunit SecY, con función biológica de sistema de secreción bacteriana y proteínas de exportación, K01996, livF; branched-chain amino acid transport system ATP-binding protein, con función biológica ruta transporte ABC, y por último K02033, ABC.PE.P; peptide/nickel transport system permease protein con actividad de ATPasas. Las categorías fueron asociadas a: 34% a transporte, 28% vías metabólicas, 12% sistema de dos componentes, 21% biosíntesis, 15% proteínas de exportación, 15% sistemas de secreción bacteriana, 16% hidrolasas

y 19% liasas; la mayoría de los conteos se encuentran en salinidad alta con un 38.35%.

Tabla 3. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica del quorum sensing en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
secA [EC:7.4.2.8]	Bacterial secretion system, Protein export	K03070	153 (6%)	125 (5%)	120 (5%)	399 (15%)	***
ddpF N/A	ATPase activity	K02032	69 (3%)	67 (3%)	59 (2%)	195 (8%)	***
secY N/A	Bacterial secretion system, Protein export	K03076	53 (2%)	46 (2%)	43 (2%)	142 (6%)	***
livF N/A	ABC transporters	K01996	43 (2%)	46 (2%)	43 (2%)	132 (5%)	*
ABC.PE.P N/A	ATPase activity	K02033	44 (2%)	41 (2%)	38 (1%)	124 (5%)	**

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.

5.3 Recombinación homóloga.

Tabla 4. Conteo (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de recombinación homóloga en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
recC [EC:3.1.11.5]	Cell division, Stress response	K03695	181 (14%)	156 (5%)	140 (4%)	478 (0.1%)	***
recD [EC:3.1.11.5]	Ion transport, transport, translocase	K17686	104 (8%)	87 (3%)	80 (2%)	270 (0.1%)	***
poIA [EC:2.7.7.7]	Chaperone	K03696	90 (7%)	82 (3%)	64 (2%)	236 (0.1%)	***
recA N/A	Oxidoreductase	K03553	84 (6%)	69 (2%)	66 (2%)	218 (0.1%)	***
dnaE [EC:2.7.7.7]	DNA damage, DNA recombination, DNA repair, SOS response, Stress response	K02337	76 (6%)	63 (2%)	63 (2%)	202 (0.2%)	***

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.

En esta categoría se detectaron 52 KO. Los de mayores abundancias fueron K03695, K17686, K03696, K03553 y K02337 con un 36% de los conteos totales.

Estos KO se asociaron a exodeoxyribonuclease, división de la célula, respuesta al estrés (K03695), ADN polimerasa con función biológica de chaperona (recD, K17686) y reparación del ADN (K03553, recA); reparación del ADN, SOS response y respuesta al estrés (K02337). Las categorías se asociaron a un 25% replicación de ADN, el 33% se asocia a la categoría a unión al ADN, el 23% transferasas, 31% a hidrolasas, 21% ADN polimerasa dirigida por el ADN y 23% nucleotidil transferasa; el 36.34% de la mayoría de los conteos se presentaron en salinidad alta.

5.4 Sistema de secreción bacteriana

Se detectaron 51 KO en el sistema de secreción de las bacterias, entre los de mayor abundancia encontramos K03070, K06147, K03076, K02454 y K03106 los cuales representan el 61% de los conteos. Estos KO se asociaron proteínas de translocación y exportación (K03070, secA); translocación (K06147, gspE, secretion K02454 gspE); Las categorías están asociadas al 80% transporte, el 29% a exportación de proteínas, el 20% al Quorum sensing, y el 16% a translocasas; en la mayoría de los conteos el 61.64% se encuentra en la salinidad alta.

Tabla 5. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de los sistemas de secreción bacteriana en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
secA [EC:7.4.2.8]	Quorum sensing, Protein export	K03070	153(11%)	125 (9%)	121 (9%)	399 (0.3%)	***
gspE [EC:7.4.2.8]	Translocase	K06147	78 (6%)	81 (6%)	75 (5%)	233 (0.2%)	*
secY N/A	Quorum sensing, Protein export	K03076	53 (4%)	46 (3%)	43 (3%)	143 (0.1%)	***
gspE [EC:7.4.2.8]	Biofilm formation - Vibrio cholerae, translocase	K02454	42 (3%)	30 (2%)	30 (2%)	101 (0.1%)	***
SRP54, ffh [EC:3.6.5.4]	Quorum sensing, Protein export, hydrolase	K03106	32 (2%)	31 (2%)	31 (2%)	95 (0.1%)	*

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.

5.5 Respondedoras de estrés

En esta categoría se detectaron 33 genes, de los cuales los de mayores abundancias fueron los KO, K03086, K05343, K02438 y K00164 con una representación del 64% de los conteos. El K03086 más abundante fue rpoD; RNA polymerase primary sigma factor con un 7.46% en la salinidad alta, para el K05343 treS; maltosa alfa-D-glucosiltransferasa/alfa-amilasa [CE: 5.4.99.16 3.2.1.1] con el 6.81% en la salinidad alta, K02438 su función es glgX; Glycogen debranching enzyme, en el cual se obtuvo un 5.11% en la salinidad alta, K00164, su función es OGDH, sucA; 2-oxoglutarate dehydrogenase E1 component, en el cual se obtuvo el 4.55% para salinidad alta. La mayoría de las categorías se asociaron a Transferase (30%) DNA-binding (27%), Hydrolase (24%) y Oxidoreductase (9%). La salinidad alta presentó los mayores recuentos con el 64.58%.

Tabla 6. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de respondedoras de estrés en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
rpoD N/A	Transcription, Transcription regulation	K03086	116 (8%)	95 (6%)	89 (6%)	300 (19%)	***
treS [EC:5.4.99.16 3.2.1.1]	Glycosidase,Hydrolase, Transferase, isomerase	K05343	105 (7%)	90 (6%)	83 (5%)	279 (18%)	**
glgX [EC:3.2.1.196]	Glycosidase,Hydrolase	K02438	79 (5%)	77 (5%)	69 (5%)	225 (15%)	**
OGDH, sucA [EC:1.2.4.2]	Lyase	K00164	71 (5%)	64 (4%)	62 (4%)	196 (13%)	**

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.

5.6 Reparación de escisión de base (BER)

En esta ruta se detectaron 25 KO; entre los de mayores abundancias K03695, K03924, K02335, K03529 y KO1972, que representan el 72.4% de los conteos; las categorías fueron asociadas a hidrolasas (76%), seguido de nucleasas (28%),

ligasas (28%), y unión al ADN (28%). La mayoría de los conteos se detectaron en salinidad alta (H) con un 72.44%.

Tabla 7. Conteo (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de reparación por escisión de bases en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
UNG [EC:3.2.2.27]	Reparación ADN, base de escisión y daño ADN	K03695	182 (11%)	156 (10%)	130 (9%)	478 (30%)	***
MPG [EC:3.2.2.21]	Reparación ADN, base de escisión y daño ADN	K03924	143 (9%)	121 (8%)	105 (7%)	368 (23%)	***
xthA [E3.1.11.2]	Unión al ADN, AND directo de ADN polimerasa, nucleotiltransferasa y transferasa	K02335	47 (3%)	40 (2%)	42 (3%)	130 (8%)	**
nfo [EC:3.1.21.2]	hidrolasa, transferasa, nucleasa, reparación ADN, daño ADN	K03529	38 (2%)	36 (2%)	37(2%)	110 (7%)	*
nfo [EC:3.1.21.2]	Ligasa	K01972	27 (2%)	26 (2%)	26 (2%)	79 (5%)	**

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 y p values.

5.7 Reparación de errores de emparejamiento de ADN (MMR)

En esta categoría se detectaron 20 KO, de los cuales K02337, K03555, K03657, K02343, K01972 y K03572 fueron los más abundantes con un 45% del total de los conteos. Las rutas se asociaron a las funciones de la ADN polimerasa dirigida al ADN (35%), nucleotidil transferasa (40%), transferasa (40%), hidrolasa (35%), ligasa (10%) y helicasa (5%).

Tabla 8. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de reparación de errores de emparejamiento de ADN (MMR) en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
MoxR [EC:3.6.3.-]	ATPase activity, Hydrolase, Mismatch repair.	K03924	143 (7.5%)	121 (6%)	105 (6%)	368 (0.2%)	***

P-type Cu+ transporter [EC:7.2.2.8]	cellular response to copper ion, cellular response to silver ion, copper ion export, copper ion transport, detoxification of copper ion, Mismatch repair.	K17686	104 (5.4%)	87 (5%)	79 (4%)	270 (0.1%)	***
ClpC [EC:2.7.7.7]	Chaperone, Mismatch repair	K03696	90 (5%)	82 (0.4.2%)	64 (3%)	236 (0.1%)	***
holA [EC:2.7.7.7]	Ligase, Purine biosynthesis, Mismatch repair.	K01589	5 (0.25%)	5 (0.3%)	7(0,4 %)	17 (0.0%)	*
mutS	DNA-binding, Cell cycle, Cell division, DNA condensation, Mismatch repair	K03593	24,39 (1.28%)	20 (1%)	19 (1%)	63 (0.0%)	***

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.

5.8 Reparación por escisión de nucleótidos (NER)

En esta categoría se detectaron 17 genes de los cuales los de mayores abundancias fueron los KO, K03701, K03695, K03702, K03723 y K03694, lo cual representan el 71% del conteo. Los cuatro últimos *KO* se asocian a *Nucleotide excision repair* (85%) DNA-binding (35%), Hydrolase (35%) y Helicase (30%). El conteo con mayor salinidad alta 4H fue del 71.07%.

Tabla 9. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de reparación por escisión de nucleótidos en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
uvrA N/A	DNA-binding, Escisión nucleasa, Nucleotide escisión repair	K03701	245 (10%)	195 (8%)	182 (7%)	621 (24%)	***
ERCC3, XPB [EC:3.6.4.12]	DNA-binding, Helicase, Hydrolase, Basal transcription factors, Nucleotide, escisión repair	K03695	182 (7%)	156 (6%)	140 (5%)	478 (19%)	***
uvrB N/A	DNA damage, DNA escisión, DNA repair, SOS response, Nucleotide escisión repair.	K03702	138 (5%)	113 (4%)	104 (4%)	355 (14%)	***
mfd [EC: 3.6.4.-]	DNA-binding, Helicase, Hydrolase, DNA damage, DNA repair, Nucleotide escisión repair	K03723	70 (3%)	64 (3%)	60 (2%)	193 (7%)	***

clpA N/A	Escisión nucleasa, Nucleotide, escisión repair.	K0369 4	68 (3%)	57 (2%)	59(2%)	184 (7%)	**
-------------	---	------------	---------	---------	--------	-------------	----

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.

5.9 Oxidasa.

Se detectaron 16 KO entre las mayores abundancias encontramos el K17285, K00228 y K03217, los cuales representaron el 77% de los conteos. El primer KO es una enzima SELENBP1; metanotiol oxidasa [CE: 1.8.3.4], K00228 CPOX, hemF; coproporphyrinogen III oxidase [EC:1.3.3.3], K03217 yidC, spolIIIJ, OXA1, ccfA; YidC/Oxa1 family membrane protein insertase. Las categorías fueron asociadas al 56% oxidoreductase, 18% Heme biosynthesis, y el 12% Transporte. la mayoría de los conteos se encuentran en salinidad alta con 77.91%.

Tabla 10. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de oxidasa en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
SELENBP1 [EC:1.8.3.4]	especies reactivas de oxígeno	K17285	38,19 (19.12%)	28 (14%)	15 (8%)	81 (41%)	(-)
CPOX, hemF [EC:1.3.3.3]	Porphyrin biosynthesis	K00228	15,98 (8.00%)	12 (6%)	15 (7%)	43 (22%)	(-)
yidC, spolIIIJ, OXA1, ccfA; YidC/Oxa1 N/A	Transport, Translocation, Protein transport	K03217	10,62 (5.32%)	9 (5%)	11 (5%)	30 (15%)	(-)

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.

5.10 Estrés salino.

En esta categoría se detectaron un total de 9 KO, de los cuales los de mayores abundancias fueron K03553, K00130, para el primer KO, es una enzima recA; recombination protein RecA, con función biológica de daño ADN, recombinación de ADN, reparación del ADN, respuesta SOS y respuesta al estrés, y para el segundo KO betB, gbsA; betaine-aldehyde dehydrogenase [EC:1.2.1.8], con

función biológica Unión al ADN, Regulación de la transcripción, Transcripción. estos dos últimos representan 90% de los conteos, la mayoría de las categorías están involucradas con unión al ADN en un 22%, un 33% con oxidoreductasa, el 22% Regulación de la transcripción y transcripción, finalmente el 90.37% corresponde a salinidad alta, en todas las categorías totales.

Tabla 11. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
recA N/A	DNA damage, DNA recombination, DNA repair, SOS response, Stress response	K03553	84 (30%)	68 (25%)	66 (24%)	219 (79%)	***
betB, gbsA [EC:1.2.1.8]	DNA-binding, Transcription regulation, Transcription.	K00130	10 (4%)	12 (5%)	10 (4%)	32 (11%)	(-)

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.

5.11 Esterasa

Se detectaron 8 KO de los cuales los más abundantes fueron K01070 S-formylglutathione hydrolase [EC:3.1.2.12], con función biológica serina esterasa e hidrolasa, el segundo K01081, corresponde a 5'-nucleotidase [EC:3.1.3.5], y su función es hidrolasa, y el último es K00784, que es una ribonucleasa Z [EC:3.1.26.11], con función biológica endonucleasa, nucleasa, hidrolasa y procesamiento de ARNt, lo que representan al 54.3% de los conteos. En esta categoría el 12.5% corresponde a funciones como serina esterasa, transcripción, regulación de transcripción, endonucleasas, nucleasas y procesamiento de ARNt, y un 100% a hidrolasas, la mayoría de los conteos se encuentra en salinidad baja con un 64.35%.

Tabla 12. Conteo (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de la esterasa en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
Esd, Es, Es-1, Es-10, Es1, Es10, FGH, sid478 [EC:3.1.2.12]	Serine esterase, Hydrolase	K01070	4 (0,00%)	4 (0,00%)	4 (0,00%)	12 (1%)	(-)
YfkN [EC:3.1.3.5]	Hydrolase	K01081	3 (0,00%)	3 (0,00%)	4 (0,00%)	11 (1%)	*
ELAC1 [EC:3.1.26.11]	Endonuclease, Nuclease, Hydrolase, tRNA processing	K00784	3 (0,00%)	2 (0,00%)	2 (0,0%)	7 (1%)	(-)

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.

5.12 Chaperonas

Se detectaron 7 KO, de los cuales cuatro corresponden a las más altas salinidades con un 99%. Estos KO se asociaron a chaperonas que ayudan al correcto plegamiento de proteínas respuesta a calor y a radiación (K04077, GroEL) y proteínas replicación del ADN y respuesta a estrés por alta temperatura (K04079, DnaK), y proteínas de respuesta a calor (K04078, GroES). Esta categoría fue asociada a división celular (43%), a respuesta de estrés (57%), replicación de ADN (29%) y ciclo celular (43%). La mayoría de los conteos se encuentran en salinidad alta con un 99.03%.

Tabla 13. Conteo (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de la chaperona en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
Ayudan al correcto plegamiento de proteínas, respuesta al calor y a radiación. Homóloga a Hsp60 en eucariotas	Cell cycle	K04077	222 (33%)	182 (27%)	157 (23%)	561 (83%)	***
Ayudan al correcto plegamiento de proteínas, replicación del DNA y respuesta a estrés por alta temperatura. Homóloga a Hsp70 en eucariotas	Stress response	K04079	21 (3%)	15 (2%)	17 (3%)	53 (8%)	***
GroES, HSPE1; Ayudan al correcto plegamiento de proteínas, respuesta al	Cell cycle	K04078	20 (3%)	18 (3%)	16 (2%)	53 (8%)	**

calor. Homóloga a Hsp10 en eucariotas.

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.

5.13 Estrés universal

Esta categoría sólo se pudieron detectar 2 KO, de los cuales el K06149, posee una función biológica de respondedora de estrés, correspondiente a Universal stress protein UspA and related nucleotide-binding proteins y K09825, con funciones biológicas como transcripción y regulación de transcripción, correspondiente a la proteína de estrés 13 y el 100% corresponde a salinidad alta.

Tabla 14. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica al estrés universal en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
Universal stress protein UspA and related nucleotide-binding proteins	Stress response	K06149	0,39 (0,00%)	0,22 (0,00%)	0,23 (0,00%)	0 (0%)	(-)
general stress protein 13	Transcription, Transcription regulation	K09825	0,15 (0,00%)	0,11 (0,00%)	0,08 (0,00%)	0 (0%)	(-)

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.

5.14 Proteína de choque térmico

En esta categoría se detectaron 22 KO de los cuales, los más abundantes fueron K03695, K03798, K03696 y K03667 con el 82.1% de los conteos. El primer KO, es un ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpB | ATP-dependent clp protease sub, con función biológica a respondedora de estrés, K03798, es cell division protease FtsH | cell-division protein and general stress [EC:3.4.24.-], con actividad de virulencia, K03696, ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpC | HSP100; heat shock protein 100, con actividad de respondedora de estrés

y por última ATP-dependent HslUV protease ATP-binding subunit HslU | hslU, MBMO_EBAC000-60D04.93; que también tiene función de respondedora de estrés. Las categorías se asociaron proteasas (18%), hidrolasas (23%), regulación de la traducción (18%) y en su mayoría el 68% a respondedoras de estrés. El 82.18% de los conteos se presentaron en salinidad alta.

Tabla 15. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de choque térmico en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
CipB N/A	Stress response	K03695	182 (12%)	156 (10%)	140 (9%)	477 (31%)	***
FtsH [EC:3.4.24.-]	Virulence	K03798	158 (10%)	127 (8%)	113 (7%)	397 (26%)	***
CipC N/A	Stress response	K03696	90 (6%)	82 (5%)	64 (4%)	236 (15%)	***
HslU N/A	Stress response	K03667	67 (4%)	46 (3%)	47 (3%)	160 (10%)	***

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.

5.15 Unión de extremos no homólogos (NHEJ)

En esta categoría se detectaron 2 KO K01971 y K10979. El primer KO, está asociado a daño al ADN, recombinación de ADN, reparación del ADN y esporulación y el segundo KO asociado a las mismas funciones del anterior excepto la esporulación en la mayoría de los conteos se encuentra en salinidad baja con un 100%.

Tabla 16. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de unión de extremos no homólogos en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L)

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
ligD [EC:6.5.1.1]	DNA damage, DNA recombination, DNA repair, Sporulation	K01971	10 (27%)	11 (27%)	13 (3%)	35 (1%)	(-)
ku N/A	DNA damage, DNA recombination, DNA repair	K10979	0,49 (1%)	2 (5%)	3 (8%)	6 (0%)	***

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.

5.16 Superóxido dismutasa

Dentro de esta categoría se detectaron 2 KO, de los cuales K04564 y K03601, corresponden al 61.04% del total de los conteos: El primero es una superóxido dismutasa que elimina de radicales superóxidos, y su función oxidoreductase, y el segundo es una exo desoxirribonucleasa VII [EC: 3.1.11.6], con función biológica exonucleasa, hidrolasa, nucleasa, la mayoría de categorías está asociada a 33% hidrolasas, 33% oxidoreductasa. La mayoría de los conteos se encontraron en salinidad alta con un 61.04%.

Tabla 17. Conteos (% entre paréntesis) de los genes asociados a estrés ambiental en la ruta metabólica de superóxido dismutasa en el manglar delta del río Ranchería con tres puntos de salinidad alta (4H), media (2M) y baja (3L).

ENZIMA O FUNCIÓN	FUNCIÓN BIOLÓGICA	KEGG	Salinidad			Total	p values
			(Alta) H	(Media) M	(Baja) L		
superóxido dismutasa, familia Fe-Mn, eliminación de radicales superóxido [CE: 1.15.1.1]	Oxidoreductase	K04564	23 (14%)	18 (11%)	20 (12%)	61 (37%)	**
xseA, conserved hypothetical protein- subunidad grande de exo desoxirribonucleasa VII [EC: 3.1.11.6]	Exonuclease, hydrolase, nuclease	K03601	14 (8%)	12 (8%)	14 (8%)	40 (24%)	*

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.

6. DISCUSIÓN

Este estudio determinó el conteo de genes en las rutas metabólicas asociadas a condiciones de estrés ambiental en un manglar semiárido de la región de la Guajira, sometido a diferentes tensores de salinidad. Se ha reportado que la salinidad en ecosistemas marinos produce cambios tanto estructurales como funcionales de las comunidades microbianas que se encuentran dentro de los biomas (41).

Con respecto al primer objetivo, se detectó que las rutas transportadoras ABC presentaron el mayor conteo de genes asociadas a condiciones de estrés ambiental, siendo estas las interfaces principales de un organismo con el medio ambiente, en las que se encuentra en mayor relación con la salinidad en las rutas transportadoras ABC. El conjunto de proteínas transportadoras de membrana media las capacidades metabólicas celulares e influye en las vías de transducción de señales y las redes reguladoras (42).

Las proteínas ABC transportadoras transmembrana son las responsables de adquirir y transportar el fosfato, pertenecen al sistema de privación del fosfato phosphate starvation system (Pst), el cual es uno de los mecanismos que activan las bacterias para mantener el control de la homeostasis del fosfato, por la falta de nutrientes o de P (43). También contribuyen en la regulación del pH vacuolar, la homeostasis celular del K⁺, la expansión celular, el tráfico vesicular, el direccionamiento de proteínas y la tolerancia a la salinidad (44).

Para esta categoría, se detectó el gen ProVWX, (ProV K03695) codifica una proteína homóloga de unión al ATP del sistema de transporte (42), la proteína ProX (ProX K03924) de unión a glicina betaína periplásmica. La glicina betaína es uno de los solutos compatibles mejores adaptados a altas concentraciones intracelulares bajo estrés osmótico, algunas cepas de *E. coli* pueden sintetizar esta proteína (45), ayudando a equilibrar no sólo la osmolaridad externa, sino también proteger a las enzimas intracelulares de efectos amenazantes de la fuerza iónica intracelular (42). Esta proteína se acumula en grandes cantidades en respuesta a un estrés, contribuye a estabilizar estructuras subcelulares,

membranas y proteínas, eliminación de radicales libres y como buffer del potencial redox bajo estrés. Secuestra iones en los compartimentos celulares y sintetiza osmolitos especializados tales como la prolina, glicina betaína, manitol, trehalosa, ononitol y ectoína para reajustar el potencial osmótico (46).

Otro KO encontrado que representa el conteo de genes asociados a estrés ambiental es el K17686 su gen *copA*, *ctpA*, *ATP7* está relacionado con el transporte de cationes, estas enzimas transportadoras de Cu^+ tipo P, se encargan de catalizar la translocación de cationes inorgánicos, la bacteria encontrada que ayuda con la realización de este proceso es *E. coli* CopA es una ATPasa de tipo P translocadora de iones de cobre que confiere resistencia al cobre, el transporte y la formación de fosfoenzimas (47). Ante el estrés salino participan en la homeostasis, o en la resistencia, a cadmio, cobre, plomo y zinc. Estas proteínas involucradas en la expulsión de metales forman un enorme complejo proteico que funciona como una eficiente bomba de expulsión que transporta los iones tóxicos desde el citoplasma hasta el exterior de la célula bacteriana, también funcionan como antiportadores quimiosmóticos de cationes y protones (48).

El Quórum Sensing, es un mecanismo de comunicación bacteriano que regula la formación de biopelículas (49), utilizan una amplia gama de actividades fisiológicas que incluyen simbiosis, virulencia, competencia, conjugación, producción de antibióticos, motilidad, esporulación y formación de biopelículas (50). En primer lugar, la interacción de la bacteria con el agua marina y las partículas orgánicas e inorgánicas de la superficie forman un ensamblaje inicial, por último, las bacterias colonizadoras se acumulan en la biopelícula, modificando las características de las superficies del sustrato, para que otros microorganismos puedan colonizar (51). En el caso del género *Roseobacter* son reconocidas como principales colonizadoras de superficies en ambientes acuáticos, debido a su rápida respuesta a la presencia de nutrientes de la etapa de acondicionamiento bioquímico del sustrato y la formación de la biopelícula (52). La formación de biopelícula es reconocida como una estrategia de supervivencia microbiana que permite la resistencia a diferentes tipos de estrés ambiental, como falta de nutrientes, presencia de metales pesados, luz UV, desecación, agentes

bactericidas y bacteriostáticos, diferencias de temperatura y de pH. La salinidad induce mayor formación de biopelícula para protegerse de los cambios abruptos de las altas concentraciones salinas.

Dentro del sistema regulador por el operón LuxI/LuxR, que normalmente expresan niveles basales de la proteína LuxI (proteína que sintetiza autoinductor), y la proteína receptora del mismo LuxR fue descubierta en *Vibrio fischeri* (51), el gen LuxR que corresponde al KO15852, corresponde a la familia del Quorum sensing, como operador activador transcripcional de la bioluminiscencia, a pesar de que no presenta una significativa relevancia, se ha descrito en esa investigación, como gen importante para este género bacteriano y están presentes principalmente en bacterias Gram negativas (53).

El gen livF, en compañía de otros genes (*livG*, *livK*, *livM* y *livH*), que codifican el sistema de transporte ABC de aminoácidos de cadena ramificada, poseen la función de absorber y transportar los aminoácidos exógenos por parte de las células (54), Como una de las interfaces principales de un organismo con el medio ambiente, los microorganismos probablemente invirtieron mucho en los transportadores ABC para detectar y responder eficientemente a los cambios ambientales (55).

El tercer tensor que representa el conteo de genes asociados a estrés ambiental es la recombinación homóloga, es un método común de recombinación genética que permite a las células reparar con precisión el daño causado por roturas de ADN de doble cadena. Las proteínas procarióticas relacionadas con la recombinación homóloga están codificadas principalmente por genes de la familia *rec* (56). Dentro de esta categoría encontramos los genes *recC* y *recD*. El primero K003695 *recC* es el más abundante siendo una exodeoxyribonuclease con función de división de la célula y respuesta al estrés. La proteína Rec es una proteína de unión a ADN monocatenaria que se une a los oligonucleótidos para evitar la degradación por nucleasas y promover la hibridación entre los oligonucleótidos y las cadenas molde, sin embargo, otros mecanismos relacionados son el aumento de la tolerancia al estrés ácido, la promoción del

crecimiento celular y el metabolismo, aunque siguen sin estar claros (56). Además, a pesar de la identificación y explotación de componentes antiácidos para mejorar la tolerancia al estrés del huésped, no se ha investigado su posible aplicación en diferentes cepas; la bacteria implicada en este proceso es la *Escherichia coli* (56).

El cuarto tensor que presentó el conteo de genes asociados a estrés ambiental es el sistema de secreción bacteriana. Este se encarga de secretar factores de virulencia desde el citosol de las bacterias hacia las células huésped o el entorno del huésped (57). En esta categoría encontramos los siguientes genes *secA*, *secY*, *gspE*. El primer KO siendo K03070, *secA* es el más abundante y su función está asociada con las proteínas de translocación y exportación de aminoácidos y péptidos. *SecA*, *SecY* y *SecE* forman un canal conductor de proteínas, y *SecA* impulsa proteínas en un proceso dependiente de ATP a través de este canal. La translocasa *Sec* cataliza el transporte lineal de proteínas secretoras y de dominios periplásmicos de IMP a través de la membrana. Además, las TM de las IMP se reconocen en la translocasa *Sec* y se transfieren lateralmente a la bicapa lipídica (58). Estos sistemas de secreción, ante el estrés por salinidad incrementa el contenido de Na^+ y genera disminución de otros macronutrientes y micronutrientes (P , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} y Cu^{2+}), los cuales forman complejos multiproteicos que evitan la presencia del efector en el periplasma por lo que los sustratos son secretados desde el citoplasma hasta el medio extracelular, ayudando a disminuir los efectos adversos que provoca este cambio en el sistema de secreción bacteriano (59).

El quinto tensor que representa el conteo de genes asociados a estrés ambiental es la reparación por escisión de base (BER) e interviene en la reparación del ADN por pequeñas lesiones de 1 a 13 bases por daños de oxidación y alquilación dando lugar a un estrés oxidativo. El estrés oxidativo es un tipo de estrés en el que los radicales libres dañan las estructuras celulares involucradas en la relación entre el balance energético y la transcripción génica, permitiendo que la célula responda y sobreviva al estrés oxidativo (47). En esta ruta predominaron las nucleasas tipo ligasa con unión al ADN, que corresponde a la enzima UNG, UDG;

uracil-DNA glycosylase, (K03695) fue el gen con mayor abundancia salina, cumple función de reparación al daño del ADN. La bacteria *Psychrobacter* sp posee esta enzima termolábil (UNG, el UDG cataliza la hidrólisis del enlace N-glucosídico entre el azúcar desoxirribosa y la base en el ADN que contiene uracilo (60). Por otra parte se encuentra el uracil-DNA glycosylase, estas enzimas fue aislado por primera vez en *E. coli* y su función es eliminar selectivamente las bases de uracilo del ADN mediante la formación de un sitio apirimidinico, donde se elimina una base de uracilo y luego facilita las reacciones de varias enzimas reparadoras de ADN, como por ejemplo la endonucleasa AP, o la ADN pol (61). La DNA-3-methyladenine glycosylase se ha reportado en *E. coli*, posee dos ADN glicosiladas de 3 mA que catalizan la hidrólisis del enlace N-glucosídico que une a la base 3 mA al esqueleto de desoxirribosa-fosfato, ambas glucosilasas de ADN de 3 mA son las enzimas iniciales que determinan la especificidad del daño en la vía de reparación por escisión de bases y en los sitios básicos, que se eliminan rápidamente mediante endonucleasas apurínicas/apirimidínicas (AP) y desoxirribofosfodiesterasas ubicuas, y se llenan los espacios vacíos de un solo nucleótido y sellado por ADN polimerasas y ADN ligasas (62). También encontramos el KO (K03529) con alta concentración salina, estas enzimas reparan el ADN debido a sus actividades nucleasa, endonucleasa, hidrolasa, ligasa. El gen UNG es una enzima reparadora de ADN, que cataliza el primer paso en la vía de reparación por escisión del uracilo, ha sido identificada en *E. coli* ante efectos citotóxicos y mutagénicos (60).

La reparación de errores de emparejamiento de ADN (MMR) es una vía biológica altamente conservada que juega un papel clave en el mantenimiento de la estabilidad genómica (63). Las bases desapareadas y mal apareadas en el ADN pueden surgir por errores de replicación, modificaciones de bases espontáneas o inducidas y durante la recombinación (64). El gen *moxR*; MoxR-like ATPase K03924 fue el más abundante de este tensor, es una hidrolasas que al actuar sobre anhídridos de ácido permiten catalizar el movimiento transmembrana de sustancias y ha sido detectada en *Francisella tularensis* al contribuir a la adaptación a una variedad de condiciones estresantes como la resistencia al estrés oxidativo, ácido y calor, la multiplicación intracelular y la virulencia

mediante el plegamiento y/o la estabilidad de las proteínas (65, 66). Similares resultados han sido detectados en *E. coli* ante el estrés ácido (66). Se ha sugerido que las ATPasas MoxR tienen una función similar a la de las chaperonas para la maduración de complejos proteicos específicos o para la inserción de cofactores en proteínas (66).

Reparación por escisión de nucleótidos (NER) es una vía pluripotente para el reconocimiento y la eliminación de un amplio espectro de lesiones del ADN. La reparación por escisión de nucleótidos implica la eliminación de las bases de ADN dañadas mediante incisiones dobles que sujetan la base dañada, la liberación de la base dañada en forma de oligómeros de 12 a 13 nucleótidos de longitud en procariontes y de 24 a 32 oligómeros de nucleótidos de longitud en eucariotes, seguido de polimerasa (67). El K03701 fue el más abundante su gen *uvrA*; es una exonucleasa ABC subunit A. Algunas arqueas, incluida la halófila extrema *Halobacterium sp.* NRC-1, son capaces de reparar el daño del ADN inducido por la luz ultravioleta (UV) en ausencia de fotorreactivación dependiente de la luz, pero esta capacidad de reparación "oscura" permanece en gran parte sin caracterizar. *Halobacterium sp.* NRC-1 posee homólogos de los genes bacterianos de reparación por escisión de nucleótidos *uvrA*, *uvrB* y *uvrC*, así como varios genes de reparación eucarióticos y se ha pensado que múltiples vías de reparación del ADN pueden explicar la alta resistencia a los rayos UV y la capacidad de reparación en la oscuridad de este modelo halófilo (68). Un estudio realizado en 5 países (Brasil, Arabia Saudita, China, India y Malasia) por medio de la metagenómica en sedimentos de manglares, evidenciaron la presencia de ADN UvrABC a través de la subunidad A de la excinucleasa ABC, esta recuperación celular se llevó a cabo después del estrés por calor (69). El sistema de reparación del ADN UvrABC es necesario para el daño del ADN inducido por la luz ultravioleta (69).

Sistema respondedoras de estrés asociadas a microorganismos

Dentro del sistema respondedoras de estrés, se encuentra el estrés oxidativo, el estrés salino, choque térmico, estrés universal, como por ejemplo el gen *rpoD*, también llamado factor sigma primario de ARN polimerasa; este factor es una subunidad de ARN involucrado en el reconocimiento de promotores y separación de cadenas de ADN durante el inicio de la transcripción en las bacterias siendo esenciales para su supervivencia (70). Los factores sigmas alternativos, están involucrados en choque térmico, estrés extracitoplasmático, que han sido reportadas en *E. coli* (70). Por otra parte, las proteínas de choque térmico se caracteriza por la inducción de un conjunto de proteínas (HSP), que se activan por un aumento rápido de la temperatura ambiental muchas de estas son chaperonas GroEL(KO4077), GroES (KO4078), DnaK (KO4079) y DnaJ (KO4080), desempeñan un papel muy importante en la plegamiento y degradación de proteínas (71). Estas HSP son importantes para el estrés ambiental y producen tolerancia a altas temperaturas, alto contenido de sal y metales pesados (72). Cuando *E. coli* adapta el mecanismo de defensa controlando unos sistemas donde se involucra el factor sigma anteriormente descrito, luego se activa el represor transcripcional, para que finalmente se transcriba la información (71). En pocas palabras la respuesta general al estrés involucra varios elementos reguladores: transcripción de genes de estrés por un factor sigma alternativo, RpoS, proteólisis y modulación de la estabilidad de la transcripción (71).

De las 16 rutas metabólicas, 15 fueron significativamente influenciadas por la salinidad, excepto estrés universal. De estas ocho fueron influencias por la salinidad alta (Ruta ABC, recombinación homóloga, quorum sensing, NER, reparación de desajuste, Base escisión de reparación BER, respondedoras de estrés, proteínas de choque térmico) tres rutas para salinidad media (sistema de secreción bacteriana, chaperonas, estrés salino) y cinco rutas para salinidad baja (oxidasa, superóxido dismutasa, esterases, unión de extremos no homólogos y estrés universal).

Ruta ABC fue el proceso con mayor porcentaje en el conteo de los tres puntos de salinidad con un 27.5%, (Tabla 1) seguido de recombinación homóloga con 13.4% y quorum sensing 10.5%. Los genes con mayor conteo fueron K03695 (UNG, ERCC3, XPB, ClpB) asociados a bases de escisión de reparación, choque térmico y reparación por escisión de nucleótidos. Se detectaron en total 1613 genes en las 16 rutas metabólicas de los cuales 620 genes fueron significativamente influenciados por el estrés ambiental.

7. CONCLUSIÓN

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 de genes se encuentra asociada a los distintos tipos de salinidad , los cuales se pueden ver involucrados en diferentes tensores ambientales 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.

De todas rutas metabólicas la de mayor conteo fue la ruta transportadora ABC con un porcentaje de (27.5%) encontrando el K03529 y genes (UNG, ERCC3, XPB,ClpB), que presentó un valor significativo p.values (*referenciado en la tabla 1). Siendo esta la interfaz principal de un organismo con el medio ambiente, el conjunto de proteínas transportadoras de membrana media las capacidades metabólicas celulares e influye en las vías de transducción de señales y las redes reguladoras.

7.1 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. López J, Reyes V, Rodrigo L, Lara A. Distribución, estructura y perspectivas de conservación de los manglares. [Internet]. 2011 [cited 6 may 2021]. Available in: https://www.researchgate.net/publication/333039706_Distribucion_estructura_y_perspectivas_de_conservacion_de_los_manglares
4. Uribe J, Urrego L. Gestión ambiental de los ecosistemas de manglar. [Internet]. 2009 [cited 6 may 2021]. Available in: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/gestion/article/view/14254>
5. 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
6. 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>
7. Barbier, E. B. . The protective service of mangrove ecosystems: A review of valuation methods. *Marine pollution bulletin*, 109(2), 676-681. 2016 [cited 27

March 2022]. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025326X16300224>

8. Krauss, K. W., Lovelock, C. E., McKee, K. L., López-Hoffman, L., Ewe, S. M., & Sousa, W. P. (2008). Environmental drivers in mangrove establishment and early development: a review. *Aquatic botany*, 89(2), 105-127. 2008 Available in:
<https://10.1016/j.aquabot.2007.12.014>

9. Ordoñez, O. G., & Martínez, M. L. C. Supervivencia de propágulos de *Rhizophora mangle* bajo tensores ambientales en el brazo Calancala del río Ranchería, Caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 45(2).(2016) [cited 27 March 2022]. Available from:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-97612016000200345

10. Lema Vélez, L. F., y Polanía, J. . Estructura y dinámica del manglar del delta del río Ranchería, Caribe colombiano. *Revista de biología tropical*, 55(1), 11-21. [Internet]. 2007 [cited 20 enero 2022] 55(1), 11-21 Available in:
<https://www.scielo.sa.cr/pdf/rbt/v55n1/3602.pdf>

11. Polanía J, Orozco-ToroCA, Ángel IF. Delta del Río Ranchería (La Guajira, Colombia): caudal, salida y transporte de sólidos y su posible influencia sobre composición y estructura de los manglares. *Actual. Biol.* [Internet]. 22 de noviembre de 2017 [citado 5 de mayo de 2021];28(84):27-. Available in:
<https://revistas.udea.edu.co/index.php/actbio/article/view/329400>

12. Mohapatra.M,Yadav.R, Rajp u.V,Dharne.M, Rastogi.G.Metagenomic analysis reveals genetic insights on biogeochemical cycling, xenobiotic degradation, and stress resistance in mudflat microbiome.Elsevier.[Internet].2021 [cited 08 oct 2021];volumen 292. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112738>

13. Aparna B, Shrabana S, Sara C,Rajib B. Exopolysaccharides and Biofilms in Mitigating Salinity Stress: The Biotechnological Potential of Halophilic and

Soil-Inhabiting PGPR Microorganisms. Springer link. [Internet]. 2019 [cited 5 may 2021]. Available in: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-18975-4_6

14. Pedro H. Lebre, Pieter De Maayer, Don A. Cowan. Xerotolerant bacteria: surviving through a dry spell. *Nat Rev Microbiol*, [Internet]. 2017 15 (5): 285-296. [cited 2021 oct 26]. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28316329/>

15. Ortiz A, Robles K, Romero M, Urrego L. Diversidad e interacciones biológicas en el ecosistema manglar. *Reviencias*. [Internet]. 2018 [cited 6 may 2021]. Available in: <https://doi.org/10.25100/rc.v22i2.7925>.

16. Lamz Piedra, A., & González Cepero, M. C.. La salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos tropicales*, [Internet]. 2013 [cited 10 dic 2021] 34(4), 31-42. Available in: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362013000400005

17. Álvarez, A., Baños, R., & Otero, L. Salinidad y uso de aguas salinas para la irrigación de cultivos y forrajes en Cuba. *Ciencia y tecnología ganadera*, 2(1), 1-12. [Internet]. 2008 [cited 10 dic 2021] 34(4), 31-42. Available in: [http://www.actaf.co.cu/revistas/Revista%20CIMAGT/Rev.Vol.2%20No.1,%202008/Vol.2\(1\)08Aurelio.pdf](http://www.actaf.co.cu/revistas/Revista%20CIMAGT/Rev.Vol.2%20No.1,%202008/Vol.2(1)08Aurelio.pdf)

18. Nizam, A., Meera, S. P., & Kumar, A. . Genetic and molecular mechanisms underlying mangrove adaptations to intertidal environments. *Iscience*, 25(1), 103547. [Internet].2022 [cited 30 marzo 2021]. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S258900422101517>

19. Cavicchioli, R., Thomas, T., & Curmi, P. M. . Cold stress response in Archaea. *Extremophiles*, 4(6), 321-331. [Internet].2000 [cited 2021 NOV 08]. Available in: DOI: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs007920070001>

20. Coker, J. A., DasSarma, P., Kumar, J., Müller, J. A., & DasSarma, S.. Transcriptional profiling of the model Archaeon Halobacterium sp. NRC-1: responses to changes in salinity and temperature. *Saline systems*, 3(1), 1-17.[Internet].2007 [cited 2021 NOV 08]. Available in: DOI: <https://doi.org/10.1186/1746-1448-3-6>
21. Van Kessel,J.,Rutherford S, Cong JC,Quinodoz S, Healy J, and Bonnie L. Quorum Sensing Regulates the Osmotic Stress Response in *Vibrio harveyi*. [Internet]. 2014 [cited 2021 OCT 26]. Available in: DOI <https://doi.org/10.1128/JB.02246-14>
22. Sanchez D, Bonilla R, Respuesta vegetal de Acacia decurrens a la inoculación con Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal bajo estrés salino. Rev.temas agrarios [Internet]. 2014 [cited 28 abr 2021];19(2), 159-172. Available in: <https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/temasagrarios/article/view/731/847>
23. Rubiano C, análisis comparativo de la expresión de proteínas de tistlia consotensis en respuesta a cambios en la salinidad externa. Universidad Pontificia Javeriana. [Internet]. 2014 [cited 28 abr 2021]. Available in: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/17003/RubianoLaborCarolina2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
24. Ambily VI,Loka PA.Diversity in transcripts and translational pattern of stress proteins in marine extremophiles. Springerlink.[Internet]. 2014 [cited 1 may 2021]. Available in: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00792-010-0348-x>
25. Phuong Thi Le, Thulani P Makhalanyane, Leandro D Guerrero, Surendra Vikram, Yves Van de Peer, Don A Cowan. Comparative Metagenomic Analysis Reveals Mechanisms for Stress Response in Hypoliths from Extreme Hyperarid Deserts. *Genome Biol Evol* 2016 Sep 11;8(9):2737-47. [Internet]. 2016 [cited 2021 OCT 26]. Available in: DOI <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27503299/>
26. Alloing G., Travers I, Sagot B, Le Rudulier D, Dupont.,L.Proline Betaine Uptake in *Sinorhizobium meliloti*: Characterization of Prb, an Opp-Like ABC Transporter

Regulated by both Proline Betaine and Salinity Stress [Internet]. 2020 [cited 2021 OCT 26]. Available in: DOI <https://doi.org/10.1128/JB.00585-06>

27. Gregory, G. J., & Boyd, E. F.). Stressed out: Bacterial response to high salinity using compatible solute biosynthesis and uptake systems, lessons from Vibrionaceae. *Computational and structural biotechnology journal*, 19, 1014. [Internet].2021 [cited 2021 NOV 08]. Available in: DOI: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.01.030>

28. Llanes, A., Palchetti, M. V., Vilo, C., & Ibañez, C. . Molecular control to salt tolerance mechanisms of woody plants: recent achievements and perspectives. *Annals of Forest Science*, 78(4), 1-19. [Internet]. 2021 [cited 2021 abril 28]. Available in: DOI: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13595-021-01107-7>

29. Cintrón G, Bosques de manglar: ecología y respuesta a estresores naturales e inducidos por el hombre. [Internet] 2001 [cited 23 Sep 2021]. Available in:<https://www.govinfo.gov/content/pkg/CZIC-sd397-m25-c56-1982/html/CZIC-sd397-m25-c56-1982.htm>

30. Paingankar, M. S., & Deobagkar, D. D. Pollution and environmental stressors modulate the microbiome in estuarine mangroves: a metagenome analysis. *Current Science*, 115(8), 1525-1535.[Internet].2018 [cited 08 oct 2021]. Available in: http://www.indiaenvironmentportal.org.in/files/file/estuarine_mangroves.pdf

31. Krwawicz, J., Arczewska, K. D., Speina, E., Maciejewska, A., & Grzesiuk, E. Bacterial DNA repair genes and their eukaryotic homologues: 1. Mutations in genes involved in base excision repair (BER) and DNA-end processors and their implication in mutagenesis and human disease. *Acta Biochimica Polonica*, 54(3), 413-434. [Internet].2007 [cited 08 oct 2021]. Available in: http://www.actabp.pl/pdf/3_2007/413.pdf

32. Dianov GL, O'Neill P, Goodhead DT. Securing genome stability by orchestrating DNA repair: removal of radiation-induced clustered lesions in DNA. *Bioessays*.23(8):745-9 [Internet] .2001 [cited 08 oct 2021]. Available in: DOI: [10.1002/bies.1104](https://doi.org/10.1002/bies.1104)

33. Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Res.* 18(1):85-98 [Internet] .2008 [cited 08 oct 2021]. Available in: DOI: [10.1038 / cr.2007.115](https://doi.org/10.1038/cr.2007.115)
34. Maloisel.L, Fabre.F,Gangloff.S.,DNA Polymerase δ Is Preferentially Recruited during Homologous Recombination To Promote Heteroduplex DNA Extension.American Society for Microbiology. [Internet]. 2008. [cited 08 oct 2021]. Available in: <https://doi.org/10.1128/MCB.01651-07>
35. Delepelaire, P. Type I secretion in gram-negative bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1694(1-3), 149-161. [Internet]. 2014. [cited 08 oct 2021]. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2004.05.001>
36. Catarina S. Pereira, Jessica A. Thompson, Karina B. Xavier, AI-2-mediated signaling in bacteria, *FEMS Microbiology Reviews*. 156–181 [Internet]. 2013 [cited 08 oct 2021]. Available in: [https://doi.org/ 10.1111 / j.1574-6976.2012.00345.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00345.x)
37. Scarascia, G., Lehmann, R., Machuca, L. L., Morris, C., Cheng, K. Y., Kaksonen, A., & Hong, P. Y. Effect of quorum sensing on the ability of *Desulfovibrio vulgaris* to form biofilms and to biocorrode carbon steel in saline conditions. *Applied and environmental microbiology*, 86(1), e01664-19. [Internet]. 2019 [cited 20 oct 2021]. Available in: <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/AEM.01664-19>
38. Nichols, J.D., M.R. Johnson, C.J. Chou & R.M. Kelly. 2009. Temperature, not LuxS, mediates AI-2 formation in hydrothermal habitats. *FEMS microbiology ecology*, 68: 173-181 [Internet]. 2009 [cited 20 oct 2021]. Available in: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00662.x>
39. Kostner, D., Luchterhand, B., Junker, A. *et al.* La consecuencia de un parólogo adicional de NADH deshidrogenasa en el crecimiento de *Gluconobacter oxydans* DSM3504. *Appl Microbiol Biotechnol* 99, 375–386 . [Internet] 2015 [cited 27 March 2022]. Available in: <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6069-9>

40. Sepúlveda-Correa, A., Daza-Giraldo, L. V., Polanía, J., Arenas, N. E., Muñoz-García, A., Sandoval-Figueroa, A. V., & Vanegas, J.. Genes associated with antibiotic tolerance and synthesis of antimicrobial compounds in a mangrove with contrasting salinities. *Marine Pollution Bulletin*,. [Internet]. 2021 [cited 26 enero 2022] 55(1), 171, 112740 Available in: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112740>
41. Frase MW, Gleeson DB, Grierson PF, Laverock B, Kendrick GA. Metagenomic Evidence of Microbial Community Responsiveness to Phosphorus and Salinity Gradients in Seagrass Sediments. *FrontMicrobiol* [Internet]. 2018 [cited 2018 Oct 31] 9:17:1703. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30105009>
42. García Valero, R. M.. M ... Redes de señalización implicadas en la regulación del metabolismo de las ectoínas en la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens* y su potencial terapéutico como agente neuroprotector.2020 [cited 27 March. 2022] Available in: <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-12-S1-S8>
43. Ana Sofía Flores Castellanos¹ Lucio Rodríguez Sifuentes¹ * Yeni N. Pérez Gelvez² Gerardo Gutiérrez Sánchez 2 2018 Influencia de fuentes de fosfato inorgánico en la expresión de proteínas de una cepa bacteriana solubilizadora de fosfato nativa de La comarca Lagunera *Nova scientia* vol.10 no.21 Available in: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-07052018000200173
44. Warner Urías, Norberto Alexandro. Caracterización fisiológica de tres fenotipos de *Mesembryanthemum crystallinum* y análisis de la expresión de los genes antiporte Mchx1 y Mchx2 durante el estrés salino. [cited 21 April 2022]. Available in: <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/509>
45. Stirling, D. A., Hulton, C. S. J., Waddell, L., Park, S. F., Stewart, G. S. A. B., Booth, I. R., & Higgins, C. F. (1989). Molecular characterization of the proU loci of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* encoding osmoregulated glycine betaine transport systems. *Molecular microbiology*, 3(8), 1025-1038. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2958.1989.tb00253.x>

46. Pereyra Cardozo m. & A. Quiriban. LAS PROTEÍNAS EN LA TOLERANCIA AL ESTRÉS HÍDRICO EN PLANTAS. SEMIÁRIDA Revista de la Facultad de Agronomía UNLPam Vol 24(1):55-67. (2014) [cited 19 April 2022]. Available in: <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/semiarida/article/view/3024/2935>
47. Bin Fan and Barry P. Rosen. Biochemical Characterization of CopA, the Escherichia coli Cu(I)-translocating P-type ATPase*. THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY. Published, JBC Papers in Press, September 25, 2002. [cited 27 March 2022]. Available in: <https://www.jbc.org/action/showPdf?pii=S0021-9258%2819%2971419-7>
48. C Cervantes, AE Espino-Saldaña, F Acevedo-Aguilar, IL León-Rodríguez, ME RiveraCano, M Avila-Rodríguez, K Wróbel-Kaczmarczyk, K W. Interacciones microbianas con metales pesados. Revista Latinoamericana de MICROBIOLOGÍA. (2006). [cited 19 April 2022]. Available in: <https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2006/mi062v.pdf?q=metales>
49. Rojas Badía, M. M. Quorum sensing en la asociación beneficiosa de las bacterias con las plantas. *Revista colombiana de biotecnología*, 13(2), 135-143 (2011).[cited 27 March 2022] Available in: [.http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752011000200012](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752011000200012)
50. Melissa B. Miller y Bonnie L. Bassler. Quorum Sensing in Bacteria. Annual Review of Microbiology Volume 55, 2001 Vol. 55:165-199. (2001). [cited 21 April 2022]. Available in: https://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurev.micro.55.1.165#_i4
51. López Pérez, S. S. Evaluación de los mecanismos de comunicación celular en bacterias de sedimentos marinos. *Centro de Estudios de Ciencias del Mar*. [Internet] 2019 [cited 27 March 2022] Available in: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/77230>
52. Dang, H.,Li.,T.,Chen., y Huang, G. .Cross-ocean distribution of Rhodobacterales bacteria as primary surface colonizers in temperate coastal

marine waters., *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 52-60 (2008) [cited 27 March 2022]
Available in: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.01400-07>

53. Del Val, C., & Bondar, A. N. (2020). Diversity and sequence motifs of the bacterial SecA protein motor. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1862(10), 183319. [cited 27 March 2022] Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273620301504>

54. Wang, S., Yan, Z., Wang, P., Zheng, X., & Fan, J. (2020). Comparative metagenomics reveals the microbial diversity and metabolic potentials in the sediments and surrounding seawaters of Qinhuangdao mariculture area. *PLoS one*, 15(6), e0234128. [cited 27 March 2022] Available in: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0234128>

55. Hosie, A. H., & Poole, P. S. (2001). Bacterial ABC transporters of amino acids. *Research in microbiology*, 152(3-4), 259-270. [cited 27 March 2022] Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0923250801011974?via%3Dihub>

56. Zhengming Zhu, Xiaomei Ji, Zhimeng Wu, Juan Zhang, Guocheng Du. Improved acid-stress tolerance of *Lactococcus lactis* NZ9000 and *Escherichia coli* BL21 by overexpression of the anti-acid component *recT*. *Published: 01 December 2018* [cited 27 March 2022]. Available in: <https://academic.oup.com/jimb/article/45/12/1091/6015536?login=false>

57. Erin R. Green, Joan Meccas. Bacterial Secretion Systems: An Overview. 26 February 2016 [cited 27 March 2022]. Available in: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/microbiolspec.VMBF-0012-2015>

58. Fröderberg, L., Houben, E. N., Baars, L., Luirink, J., & De Gier, J. W. (2004). Targeting and translocation of two lipoproteins in *Escherichia coli* via the SRP/Sec/YidC pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 279(30), 31026-31032. [cited 27 March 2022]. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925818361532>

59. Pablo Vladimir Cabañas, Romero Alejandro Huerta Saquero. Nanomáquinas biológicas: los sistemas de secreción bacterianos. Centro de Nanociencias y Nanotecnología. UNAM. Jun-2021. [cited 21 April 2022]. Available in: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-56912014000200028#:~:text=Los%20sistemas%20de%20secreci%C3%B3n%20que,h%C3%A1bitat%2C%20principalmente%20con%20aquellas%20bacterias
60. Lee MS, Kim GA, Seo MS, Lee JH, Kwon ST. Characterization of heat-labile uracil-DNA glycosylase from *Psychrobacter* sp. HJ147 and its application to the polymerase chain reaction. *Biotechnol Appl Biochem*. [Internet]. 2009 [cited 20 febrero 2022]; 11: 39-42. Available in: doi: [10.1042/BA20080028](https://doi.org/10.1042/BA20080028)
61. Kim, G. A., Sun, Y., Song, J. G., Bae, H., Kim, J. H., & Kwon, S. T. Properties of cold-active uracil-DNA glycosylase from *Photobacterium aplysiae* GMD509, and its PCR application for carryover contamination control. *Enzyme and microbial technology*, [Internet] 2009 Feb [cited 10 March 2022]. Available in :44(5), 263-268.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141022908003529>
62. Yamagata, Y., Kato, M., Odawara, K., Tokuno, Y., Nakashima, Y., Matsushima, N, & Fujii, S. (1996). Three-dimensional structure of a DNA repair enzyme, 3-methyladenine DNA glycosylase II, from *Escherichia coli*. *Cell*, 86(2), 311-319. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867400801026>
63. Guo-Min Li. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *nature cell research*. Published: 24 December 2007. [cited 20 March 2022]. Available in: <https://www.nature.com/articles/cr2007115>
64. Thomas M. Marti, Christophe Kunz, Oliver Fleck. DNA mismatch repair and mutation avoidance pathways. *Journal of cellular physiology*. First published: 19 February 2002. [cited 20 March 2022]. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.10077>
65. Dieppedale, J., Sobral, D., Dupuis, M., Dubail, I., Klimentova, J., Stulik, J., .. & Charbit, A. (2011). Identification of a putative chaperone involved in stress

resistance and virulence in *Francisella tularensis*. *Infection and immunity*, 79(4), 1428-1439. Available in: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/IAI.01012-10>

66. Keith S Wong 1, Walid A Houry Novel structural and functional insights into the MoxR family of AAA+ ATPases. *J Struct Biol* 2012 Aug. Epub 2012 Apr 3. [Internet]. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22491058/>

67. Joyce T. Reardon, Aziz Sançar. Nucleotide Excision Repair. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, Academic Press. Volume 79, First published: 2005 [cited 27 March 2022]. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0079660304790042>

68. Crowley DJ, Boubriak I, Berquist BR, Clark M, Richard E, Sullivan L, DasSarma S, McCready S. The *uvrA*, *uvrB* and *uvrC* genes are required for repair of ultraviolet light induced DNA photoproducts in *Halobacterium* sp. NRC-1. *Saline Syst.* 2006 Sep 13;2:11. [cited 27 March 2022]. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16970815/>

69. Madang Chanok Imagen, Ranjith Kumavath, La metagenómica de escopeta revela una comunidad procariótica heterogénea y una amplia gama de genes de resistencia a antibióticos en sedimentos de manglares, *FEMS Microbiology Ecology*, volumen 96, número 10, octubre de 2020, [cited 27 March 2022]. Available in: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa173>

70. Santillán, O., Ramírez-Romero, M. A., Lozano, L., Checa, A., Encarnación, S. M., & Dávila, G. (2016). Región 4 of *Rhizobium etli* primary sigma factor (SigA) confers transcriptional laxity in *Escherichia coli*. *Frontiers in microbiology*, 7, 1078. [cited 27 March 2022]. Available in: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.01078/full>

71. Poole, K. (2012). Bacterial stress responses as determinants of antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(9), 2069-2089. [cited 27 March 2022]. Available in: https://link-springer-com.ezproxy.unal.edu.co/referenceworkentry/10.1007/978-3-642-30141-4_79

72. Gamer, J., Bujard, H., & Bukau, B. (1992). Physical interaction between heat shock proteins DnaK, DnaJ, and GrpE and the bacterial heat shock transcription factor σ_{32} . *Cell*, 69(5), 833-842.[cited 27 March 2022]. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1534276/>

73. Moghaieb R, Saneoka H and Fujita K. Effect of salinity on osmotic adjustment, glycinebetaine accumulation and the betaine aldehyde dehydrogenase gene expression in two halophytic plants, *Salicornia europaea* and *Suaeda maritima* [Internet]. *CienceDirect* 2004 [cited 27 March 2022]. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945204000445?fbclid=IwAR3sVNcFVZGClpFFVcHEduyzIbLldPBDhZ7CV-U0fArtACSudQF-ZDqFWPM>

74. Munns R. Genes and salt tolerance: bringing them together. [Internet]. *NewPhytologist* 2005 [cited 27 March 2022]. Available in: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.14698137.2005.01487.x?fbclid=IwAR2wBmw-JcxIC1uiNSuyqU78mCrV99eDJB0GF8uVpQG82RWlhblbKPF0Va>

75. Nancy Paola Echeverri-Ruíz, Ismena Mockus-Sivickas. mecanismos celulares en respuesta al estrés: sirtuinas. *Revista de la Facultad de Medicina Versión impresa* ISSN 0120-0011 rev.fac.med. vol.58 no.3 Bogotá julio/septiembre. (2010). [cited 19 April 2022]. Available in: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-0011201000300007