

# Hongos endófitos y su papel en la resistencia de *Abies religiosa* a la contaminación del aire

**Valeria Stephany Flores Almaraz**

**Tutores principales:**

- Dra. Camille Truong
- Dr. Rodolfo Salas Lizana

**Comité tutorial:**

- Dra. Alicia Mastretta Yanes
- Dr. Juan Pablo Jaramillo Correa



# **Estructura de la presentación**

**Introducción**

**Objetivos**

**Justificación**

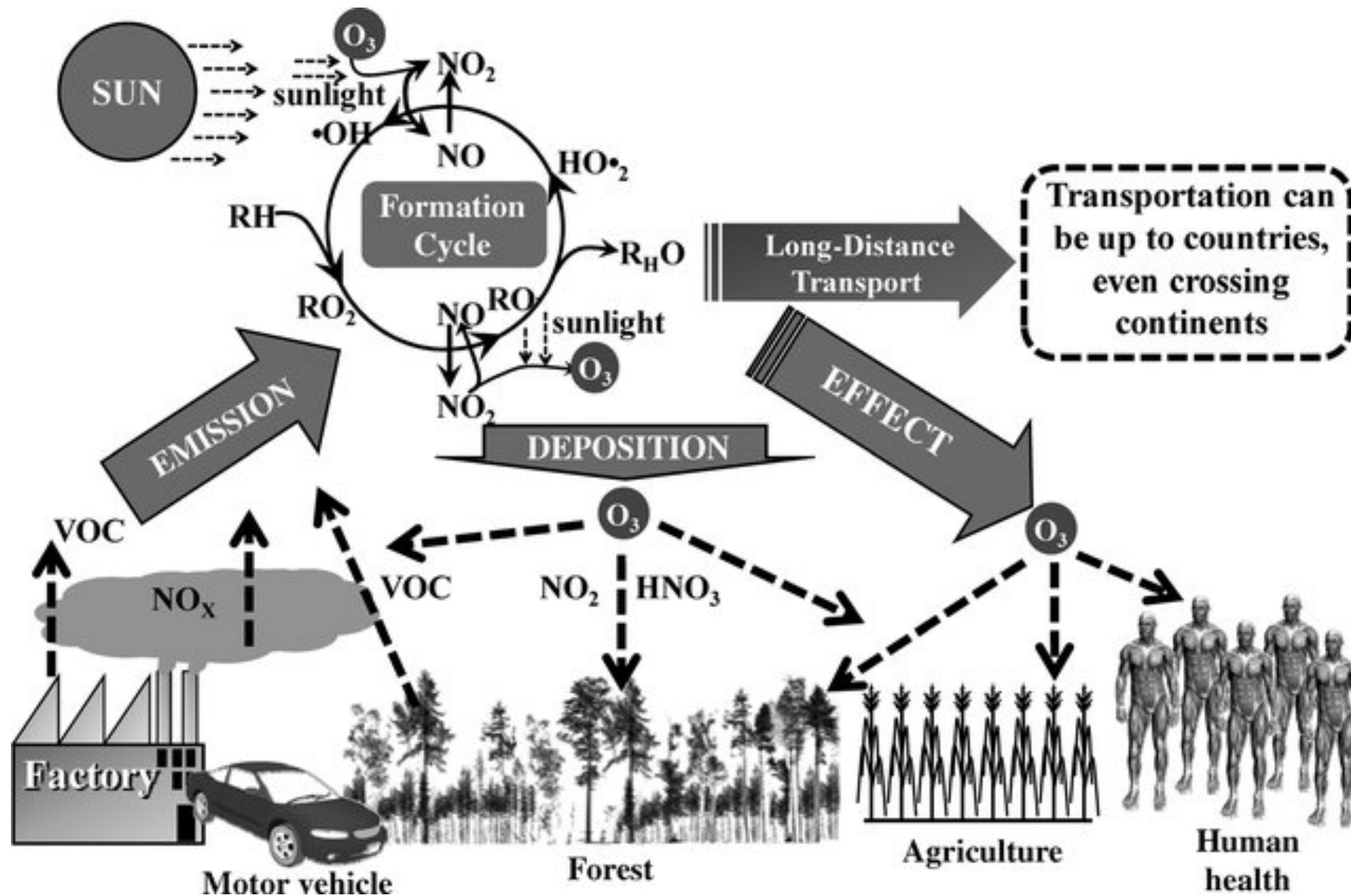
**Metodología**

**Metatranscriptómica**

**Barcoding**

**Calendario propuesto**

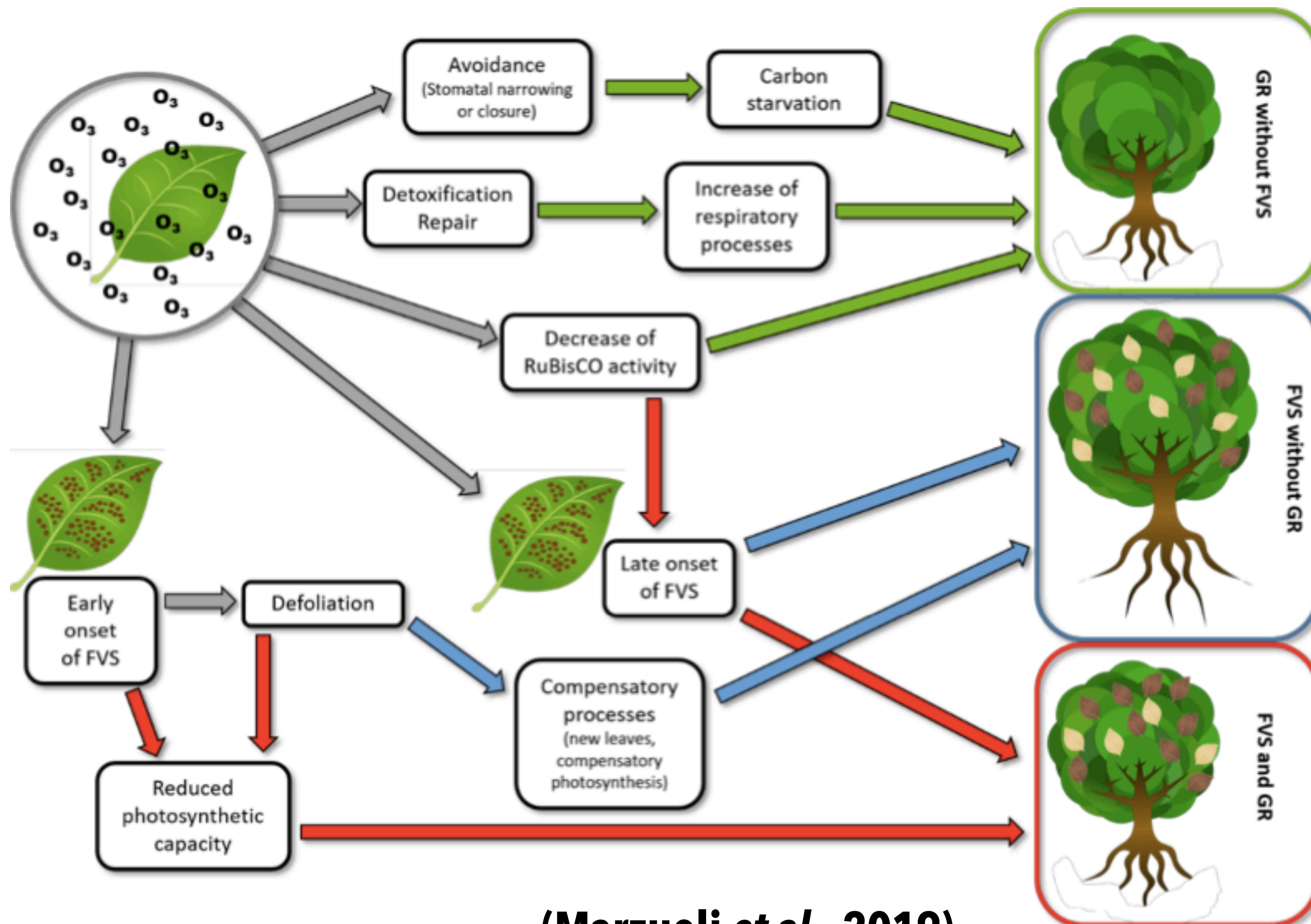
# Introducción



El  $O_3$  es un contaminante del aire cuyas emisiones aumentaron drásticamente a partir de la Revolución Industrial.

**(Cho et al., 2011; Saxena et al., 2019)**

# Efecto del O<sub>3</sub> en las plantas



(Marzuoli et al., 2019)

# Antecedentes



La alta concentración de  $O_3$  está causando el declive de las poblaciones de *A. religiosa* en los bosques periféricos de la Ciudad de México.

(Reyes-Galindo, 2019)

**En una zona expuesta a altas concentraciones de O<sub>3</sub> hay individuos de oyameles que muestran un menor nivel de daño**



**(Reyes-Galindo, 2019)**

Existe variación genética relacionada con la tolerancia al O<sub>3</sub>

# **Usando herramientas histológicas, metabolómicas, genéticas y transcriptómicas:**

- Daño estructural gradual.
- Acumulación diferencias del compuestos fenólicos.
- Los árboles estudiados tienen un origen local.
- Expresión diferencias de siete genes candidatos de las rutas metabólicas de carbohidratos y flavonoides.

**(Reyes-Galindo, 2019)**

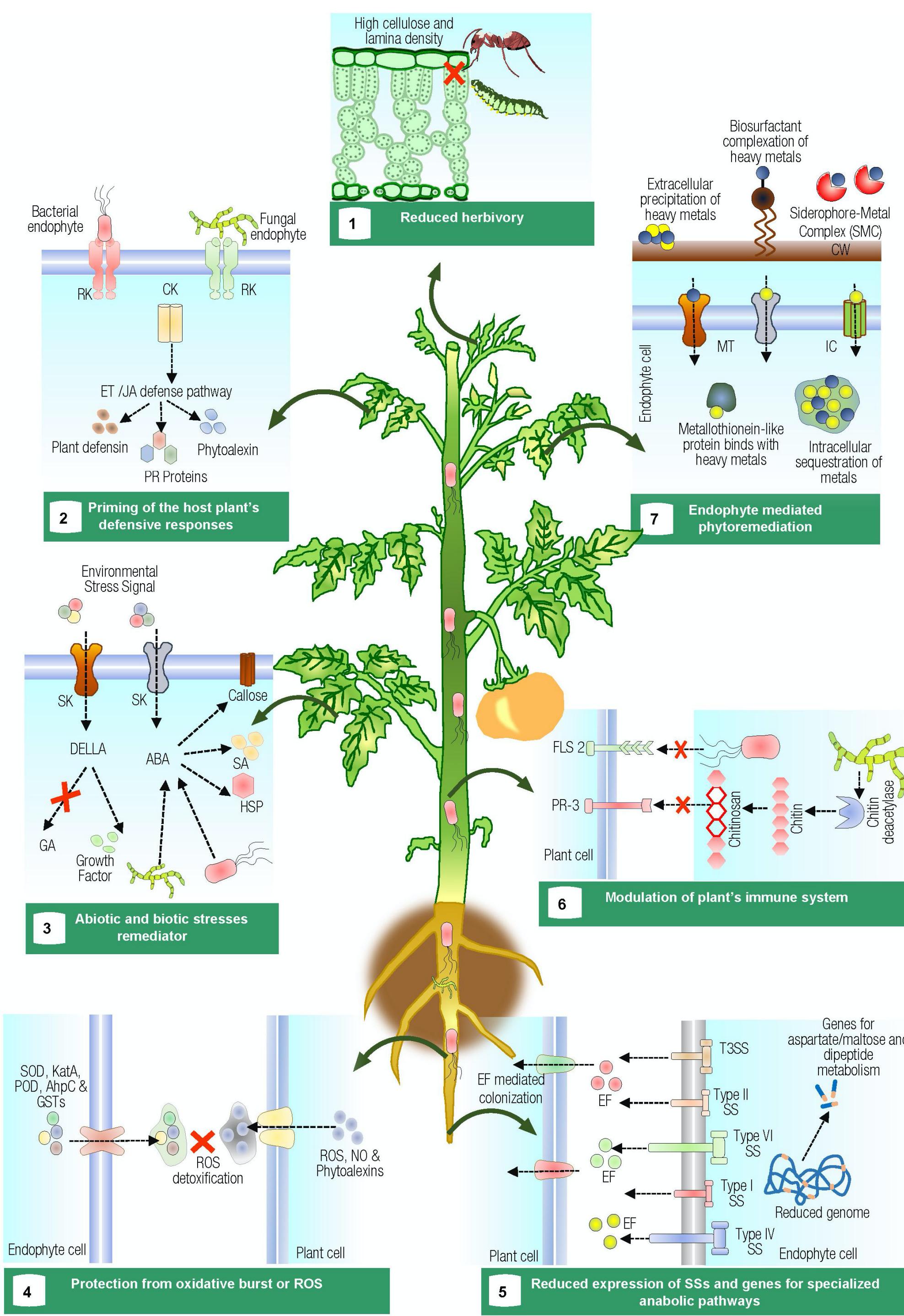
# Usando herramientas histológicas, metabolómicas, genéticas y transcriptómicas:

- Daño estructural gradual.
- Acumulación diferencias del compuestos **fenólicos**.
- Los árboles estudiados tienen un origen local.
- Expresión diferencias de siete genes candidatos de las rutas metabólicas de carbohidratos y **flavonoides**.

Los compuestos fenólicos y los flavonoides juegan un papel destacado en las actividades antioxidantes de múltiples hongos endófitos.

**(Pan et al., 2017)**

**(Reyes-Galindo, 2019)**



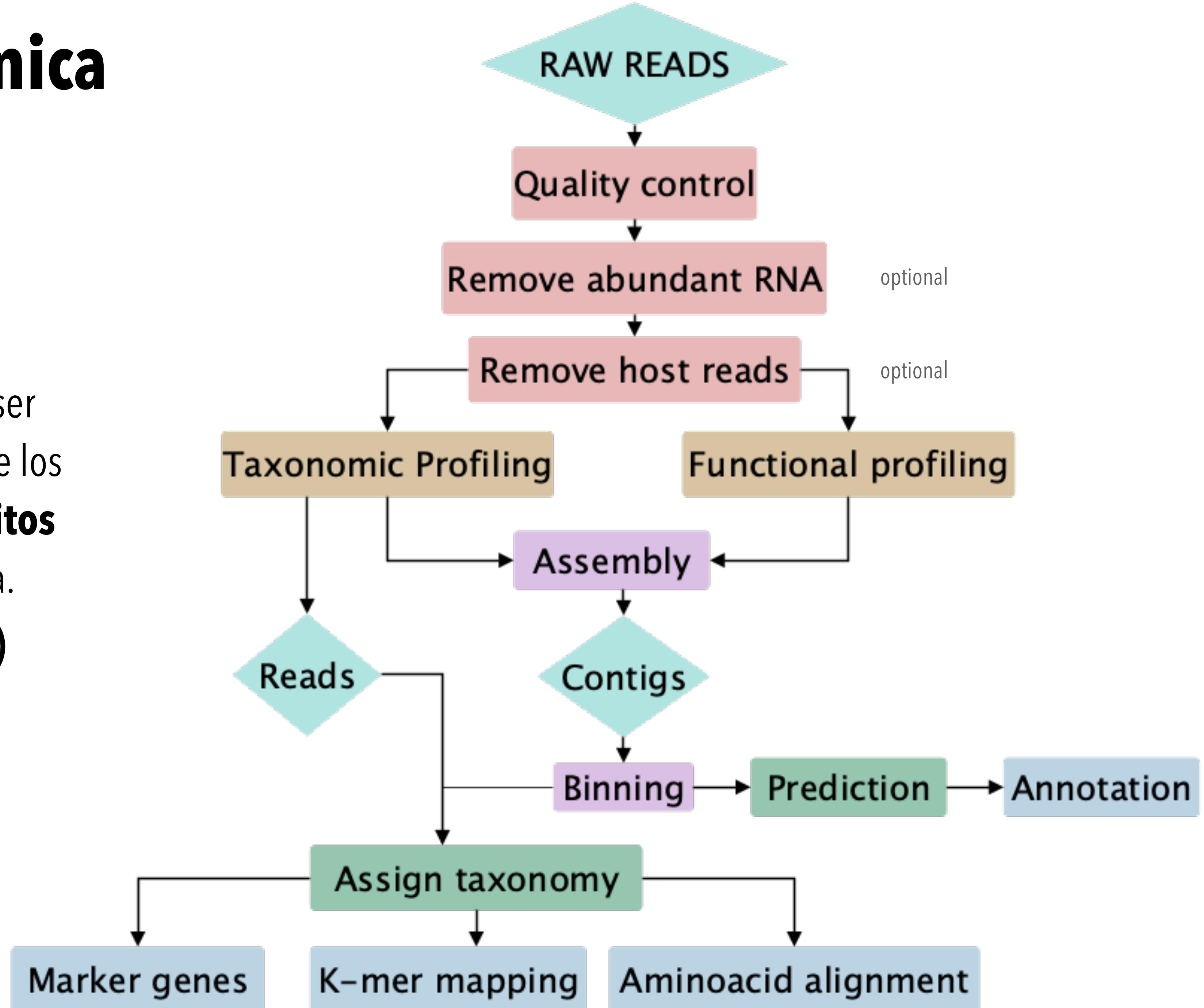
# Los hongos endófitos incrementan la adecuación de sus plantas hospederas mediante el fortalecimiento de su tolerancia a distintos estreses bióticos y abióticos.

(Khare et al. 2018)

**¿Qué pasa con los hongos endófitos en los cementerios de oyameles?**

# Metatranscriptómica

La metatranscriptómica puede ser utilizada para generar un perfil de los genes que están siendo **transcritos activamente** en una muestra.  
**(Breitwieser et al. 2017)**



# Justificación

- ▶ El  $O_3$  es un contaminante del aire que está causando el declive de las poblaciones de *A. religiosa* en las zonas periféricas de la Ciudad de México donde el drenaje atmosférico está ocasionando los llamados *Cementerios de oyamel*.
- ▶ En estos sitios se ha observado variación en el nivel de daño y estudios previos mostraron que entre los individuos dañados y tolerantes existe acumulación diferencial de compuestos fenólicos y expresión diferencial de genes relacionados con el metabolismos de flavonoides, los cuales tienen un papel destacado en las actividades antioxidantes de los hongos endófitos.
- ▶ Dados estos antecedentes, resulta importante saber qué hongos endófitos se encuentran dentro de las hojas de los oyameles en estos sitios, cómo están respondiendo ante el estrés ocasionado por  $O_3$  y si tienen un papel en la presencia de oyameles con fenotipos tolerantes.

# Objetivos

Caracterizar a nivel taxonómico y funcional las comunidades de hongos endófitos de hojas de individuos sanos y dañados de oyameles expuestos a altas concentraciones de O<sub>3</sub> e identificar funciones fúngicas claves en la resistencia de *Abies religiosa* a la contaminación del aire.

## Particulares

- Caracterizar la diversidad taxonómica y funcional, así como detectar la expresión diferencial de genes fúngicos de los endófitos de oyameles tolerantes y dañados mediante herramientas metatranscriptómicas.
- Detectar la presencia de genes fúngicos que estén potencialmente involucrados en la tolerancia de sus hospederos al estrés ocasionado por O<sub>3</sub>.
- Investigar la diversidad de hongos endófitos en la filósfera de individuos sanos y dañados de *A. religiosa* mediante aislamiento en cultivo puro, secuenciacion Sanger y metabarcoding.

# **Metodología**

**Metatranscriptómica**

**Barcoding**

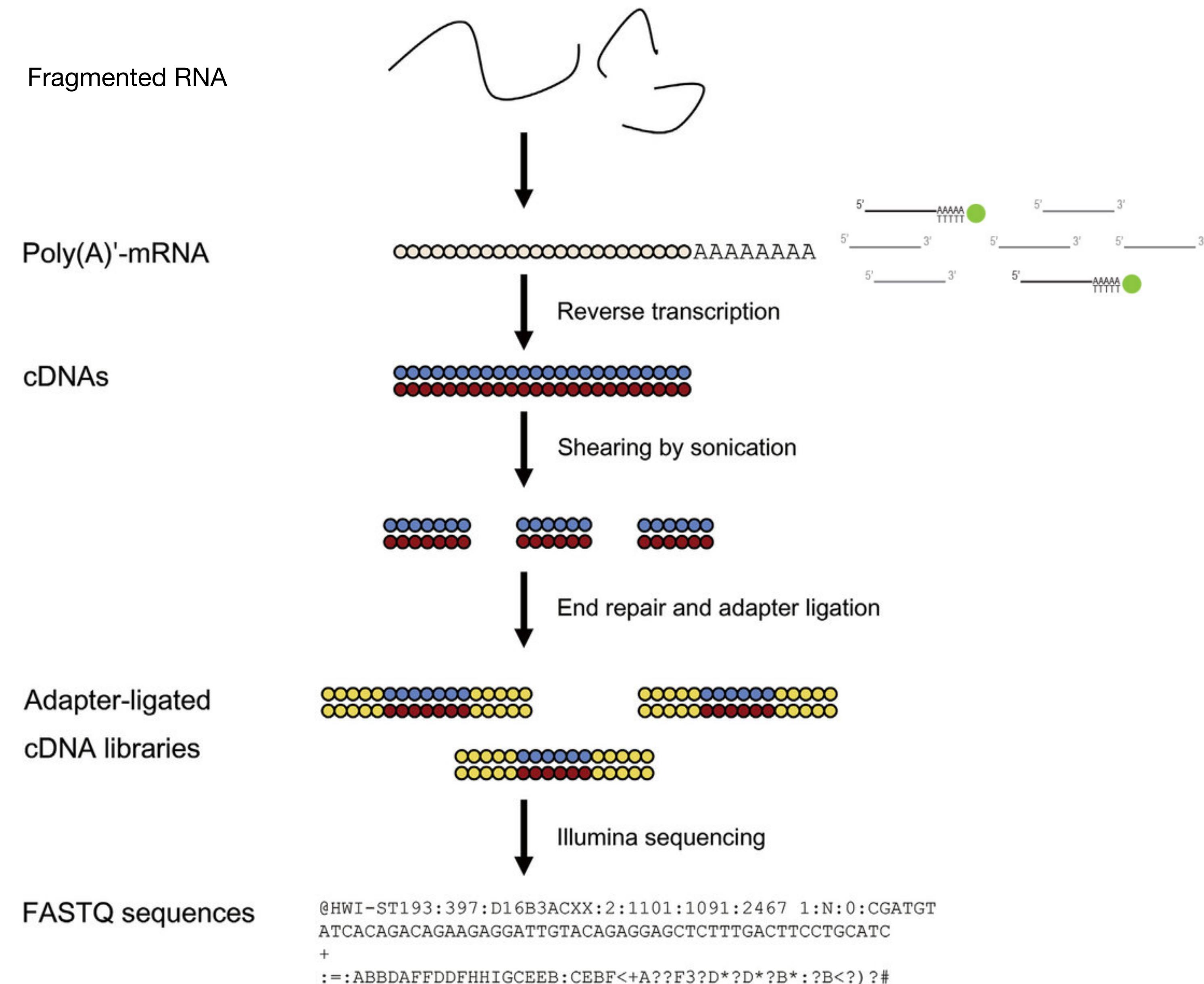
# Metatranscriptómica

## Datos

16 muestras { 8 tolerantes  
8 dañados

↓  
**Poliadenilación**

**Illumina HiSeq 4000**  
**2x150 pb**



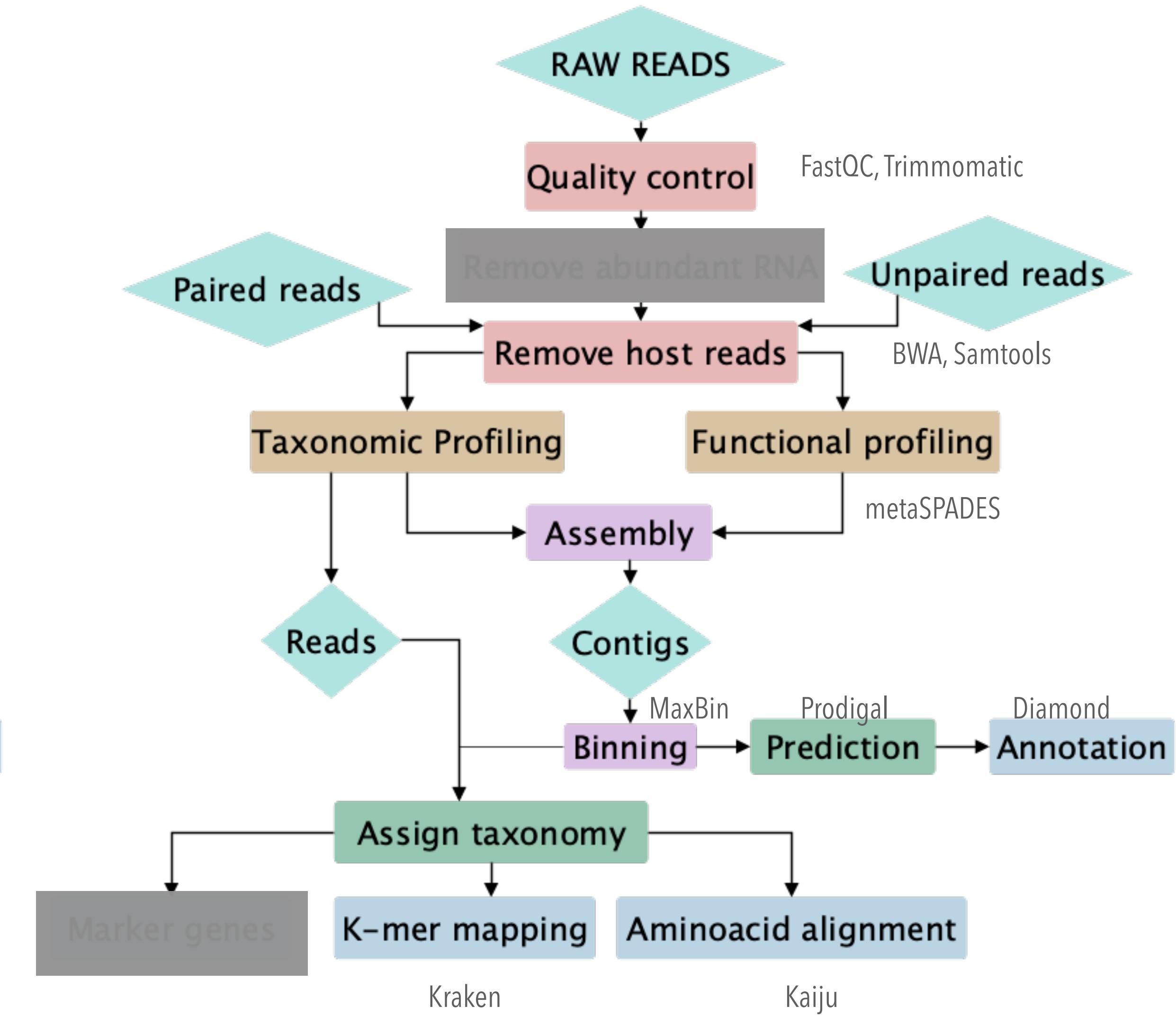
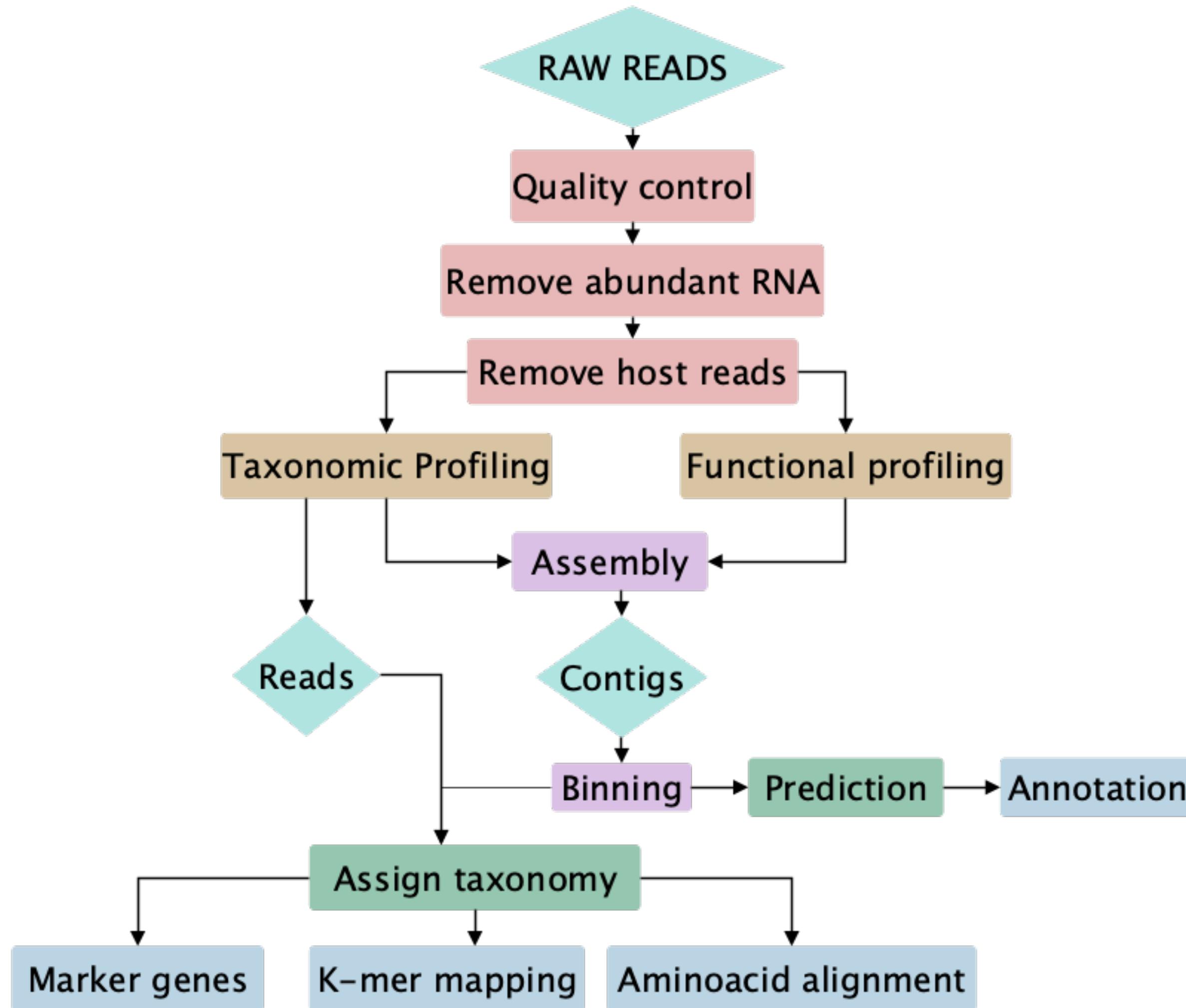
# Número de lecturas totales para cada individuo.

Sample	Total_reads	Mapped	Mapedd_percent	Properly_paired	Properly_paired_percent	Singlets	Singlets_percent
DC01_17	26324406	25203517	95.74%	23458364	89.93%	227709	0.87%
DC04_17	29032472	28076583	96.71%	25963362	90.32%	220349	0.77%
DC01_15	29917209	26626122	89.00%	24575346	82.81%	204199	0.69%
DC02_15	20519755	19680381	95.91%	18198494	89.39%	124258	0.61%
DC03_15	34920801	33514452	95.97%	30677044	88.59%	257139	0.74%
DC04_15	33932229	30796857	90.76%	28520838	84.73%	245596	0.73%
DC05_15	34662281	32472479	93.68%	30328610	88.12%	230530	0.67%
DS01_15	29755812	25145836	84.51%	23338336	79.07%	219234	0.74%
DS02_15	32034433	29891742	93.31%	27696704	87.09%	228013	0.72%
DS04_15	39785361	35702980	89.74%	32688214	82.84%	330867	0.84%
SC01_15	26628465	25110645	94.30%	23207744	87.79%	190570	0.72%
SC02_15	29394389	27421473	93.29%	25506062	87.47%	216864	0.74%
SC03_15	28885822	26935913	93.25%	25005412	87.24%	206331	0.72%
SC04_15	27148620	24890979	91.68%	23160294	85.90%	190051	0.70%
SC05_15	25402180	22810050	89.80%	21279266	84.36%	153044	0.61%
SS01_15	86373044	80384008	93.07%	74602376	87.09%	601512	0.70%
SS02_15	39848295	36957834	92.75%	34301814	86.78%	271419	0.69%
SS05_15	30581813	28117524	91.94%	26128276	86.06%	188559	0.62%

(Reyes-Galindo, 2019)

# Workflow general de Metatranscriptómica

# Modificaciones



# Análisis propuestos

## Perfil taxonómico (4)

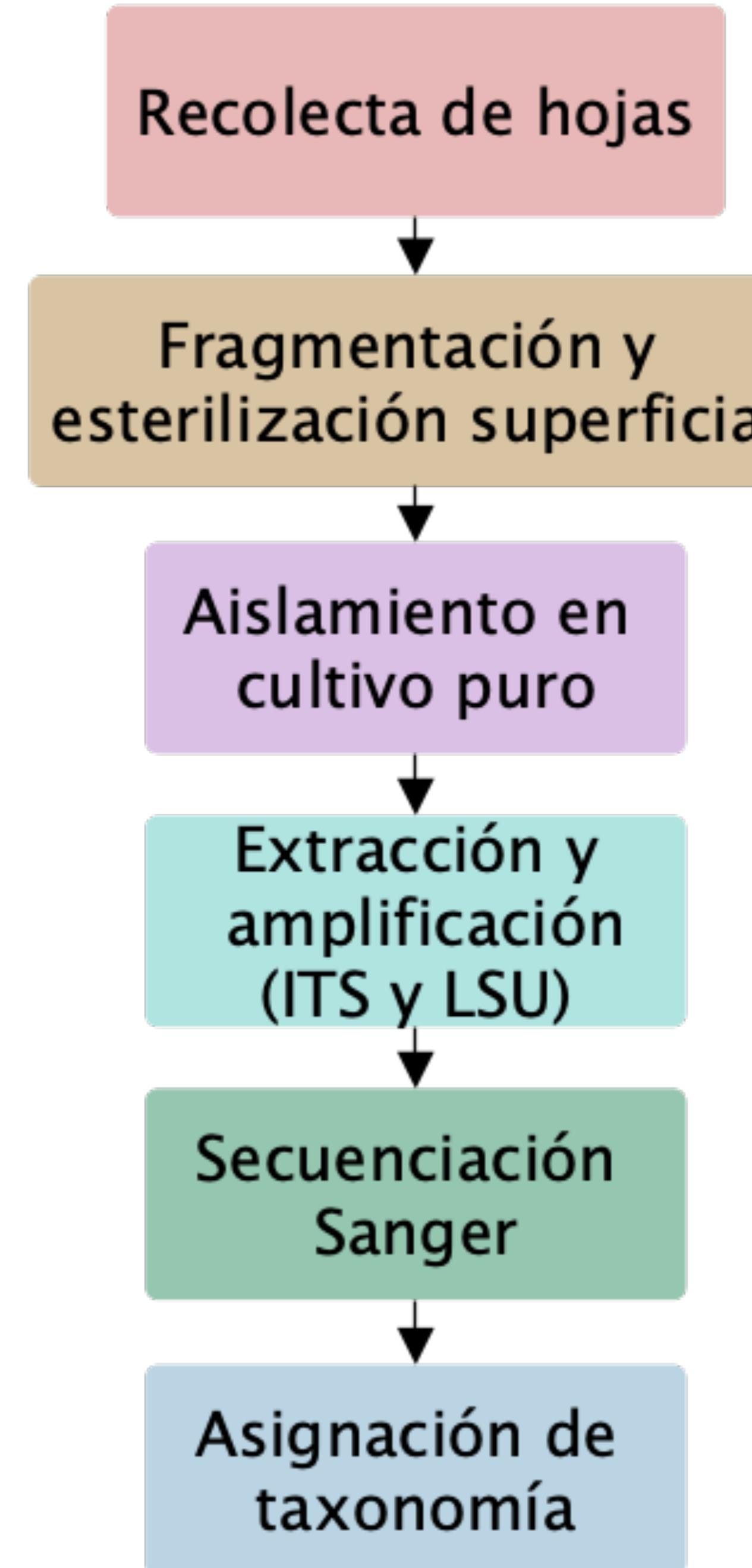
**Reads** { Kraken  
Kaiju

**Bins**  
**(contigs)** { Kraken  
Kaiju

## Perfil funcional (1)

**Bins**  
**(contigs)**

# Barcodeing



# Calendario propuesto

Actividad	Semestre 1	Semestre 2	Semestre 3	Semestre 4
Actividades académicas (clases, tutoriales, estancias, etc.)				
Trabajo de campo				
Aislamiento en cultivo puro				
Trabajo de laboratorio (Extracción de ADN, RNA y PCR)				
Análisis Bioinformáticos				
Escritura del manuscrito de tesis				

# Calendario modificado

Actividad	Semestre 1	Semestre 2	Semestre 3	Semestre 4
<b>Actividades académicas</b>				
<b>Metatranscriptómica</b>	<b>Mapeo de datos Definir softwares</b>	<b>Perfil taxonómico Perfil funcional</b>	<b>Análisis de diversidad taxonómica y funcional</b>	
<b>Trabajo de campo</b>				
<b>Aislamiento en cultivo puro</b>				
<b>Trabajo de laboratorio (Extracción de DNA y PCR)</b>				
<b>Análisis bioinformáticos Barcoding</b>				
<b>Escritura del manuscrito de tesis</b>				