

# 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**

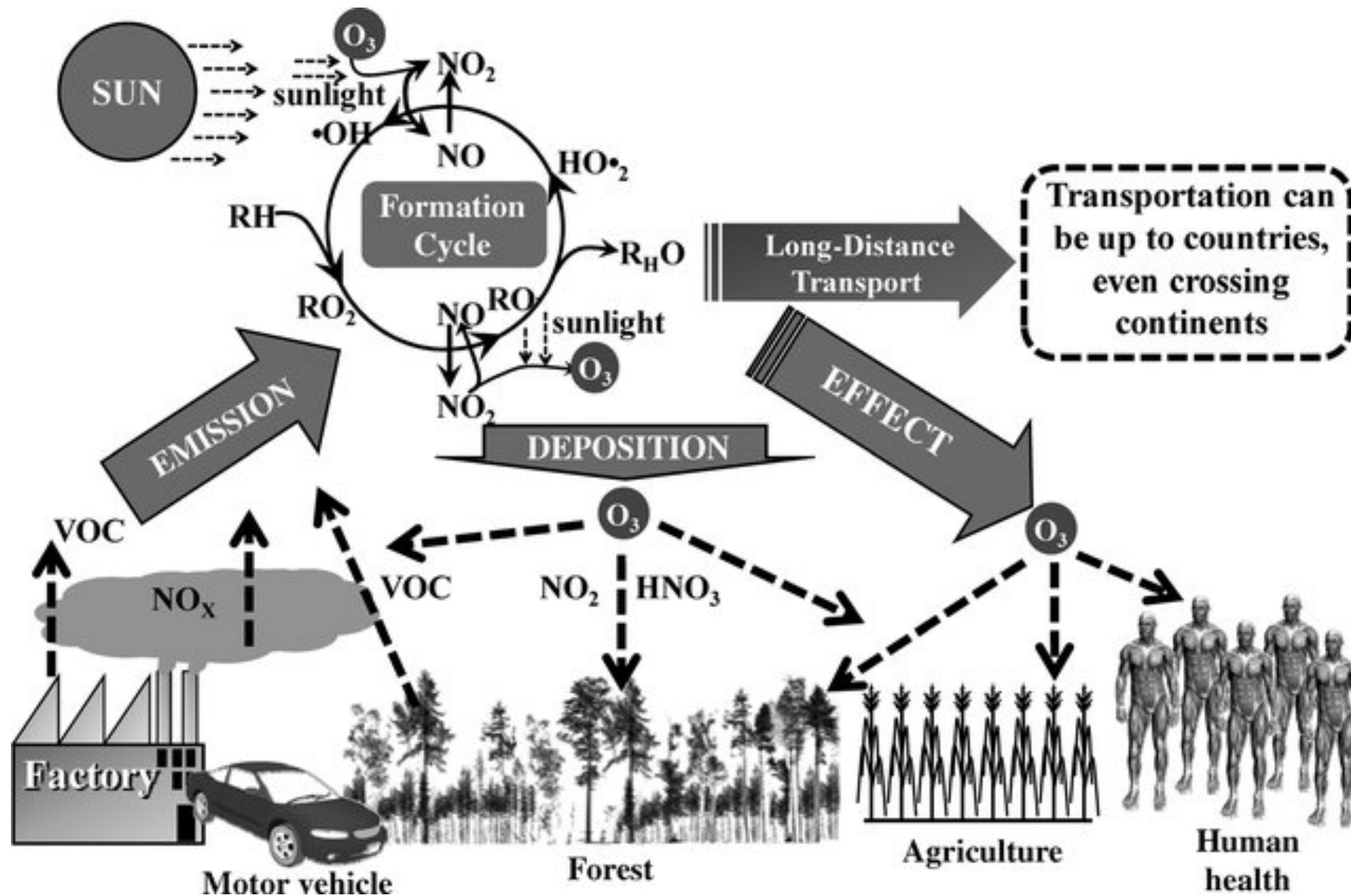
**Metodología**

**Metatranscriptómica**

**Barcoding**

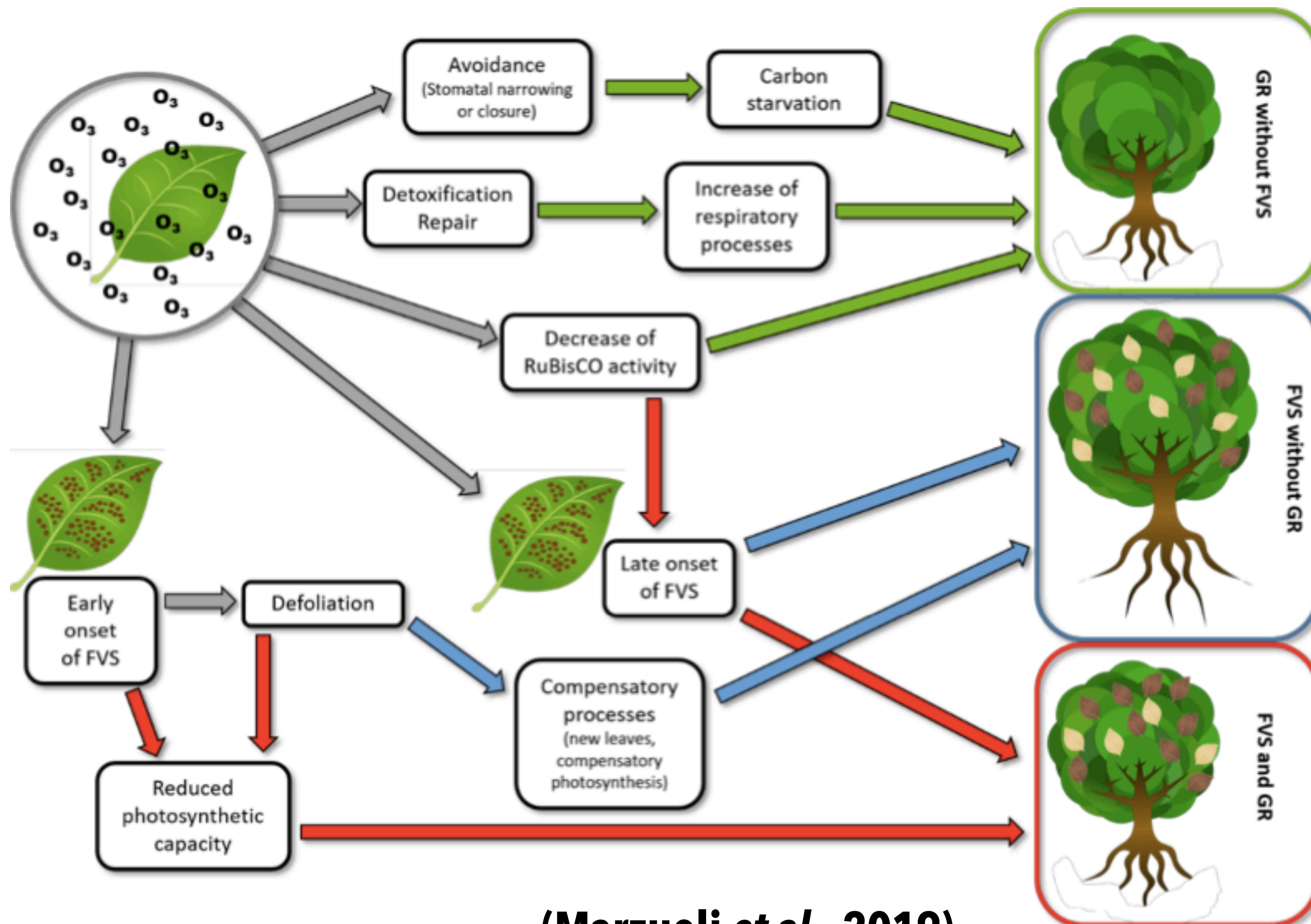
**Calendario propuesto**

# Introducción



El O<sub>3</sub> 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 diferencial de compuestos fenólicos.
- Los árboles estudiados tienen un origen local.
- Expresión diferencial de siete genes candidatos de las rutas metabólicas de carbohidratos y flavonoides.

**(Reyes-Galindo, 2019)**

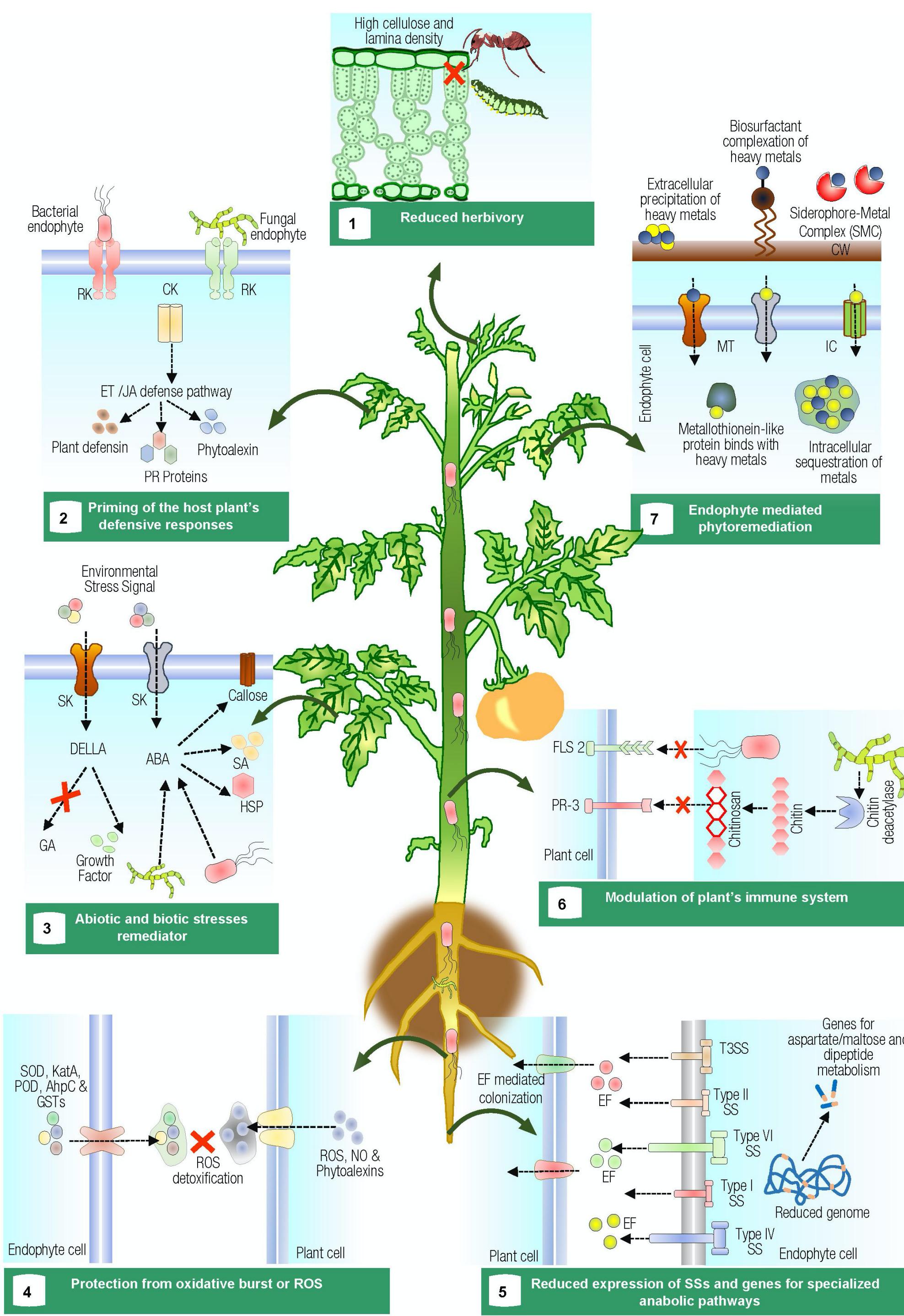
# Usando herramientas histológicas, metabolómicas, genéticas y transcriptómicas:

- Daño estructural gradual.
- Acumulación diferencial de compuestos **fenólicos**.
- Los árboles estudiados tienen un origen local.
- Expresión diferencial 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)**



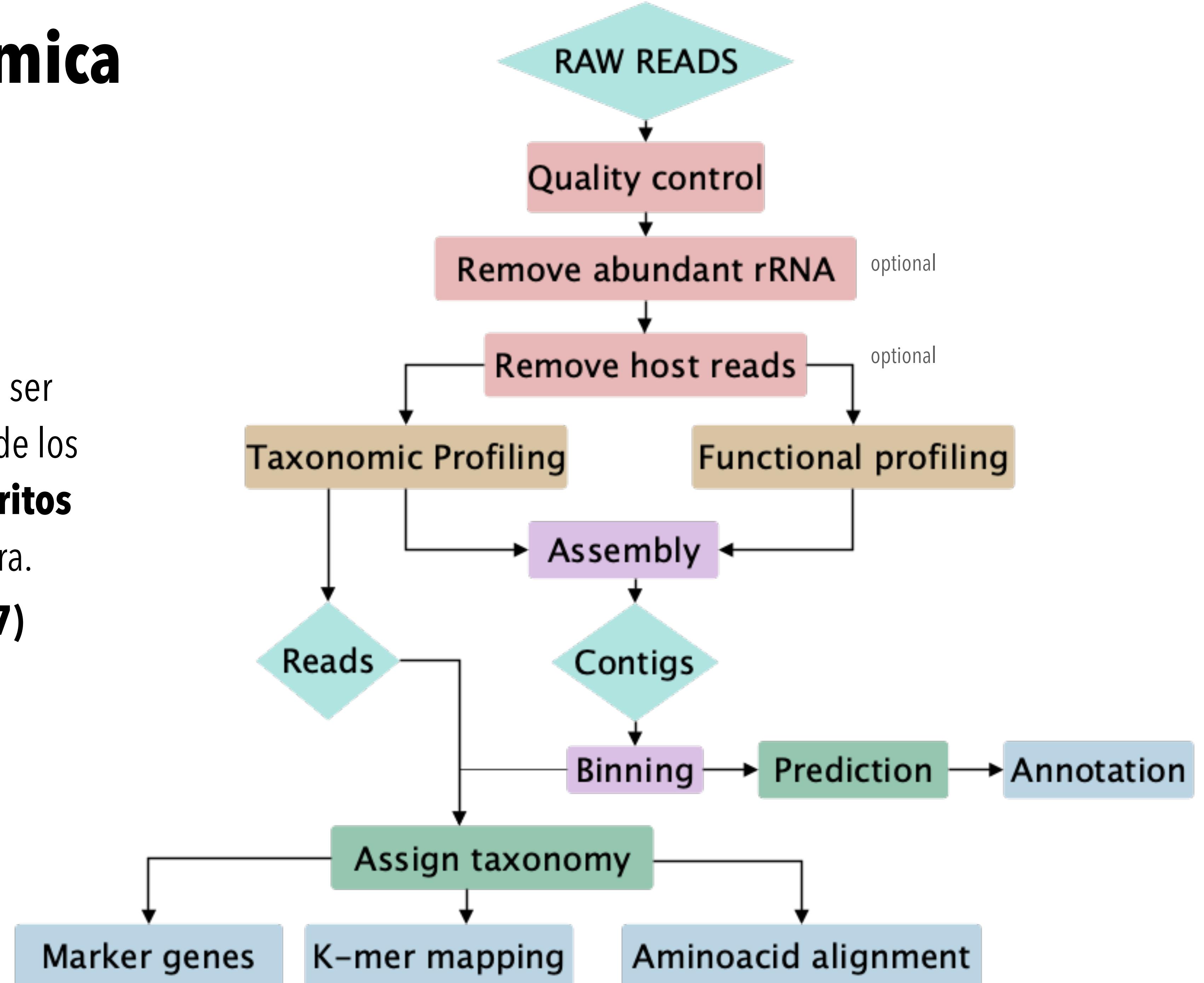
# Los hongos endófitos incrementan la adecuación de sus plantas hospederas mediante el fortalecimiento de su tolerancia a distintos estreses bióticos y abióticos.

(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<sub>3</sub> 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 ocasiona 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 hongos endófitos.
- ▶ Dados estos antecedentes, resulta importante conocer qué hongos endófitos se encuentran dentro de las hojas de los oyameles en estos sitios, así como saber de qué manera están respondiendo ante el estrés ocasionado por O<sub>3</sub> y si tienen un papel importante 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 tolerantes y dañados de *A. religiosa* mediante aislamiento en cultivo puro, secuenciacion Sanger y barcoding.

# **Metodología**

**Metatranscriptómica**

**Barcoding**

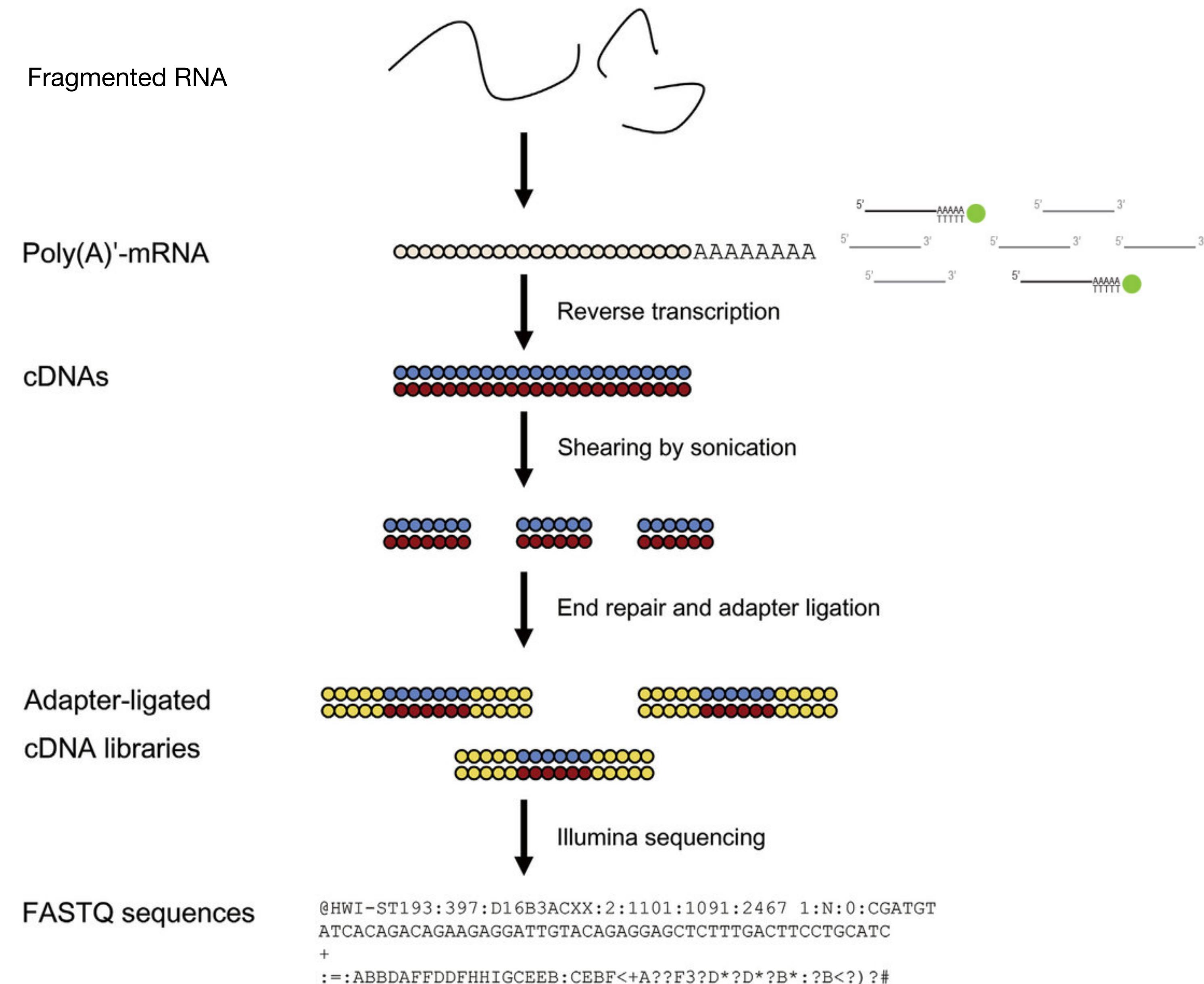
# Metatranscriptómica

## Datos

16 muestras { 8 tolerantes  
8 dañados

↓  
**Poliadenilación**

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



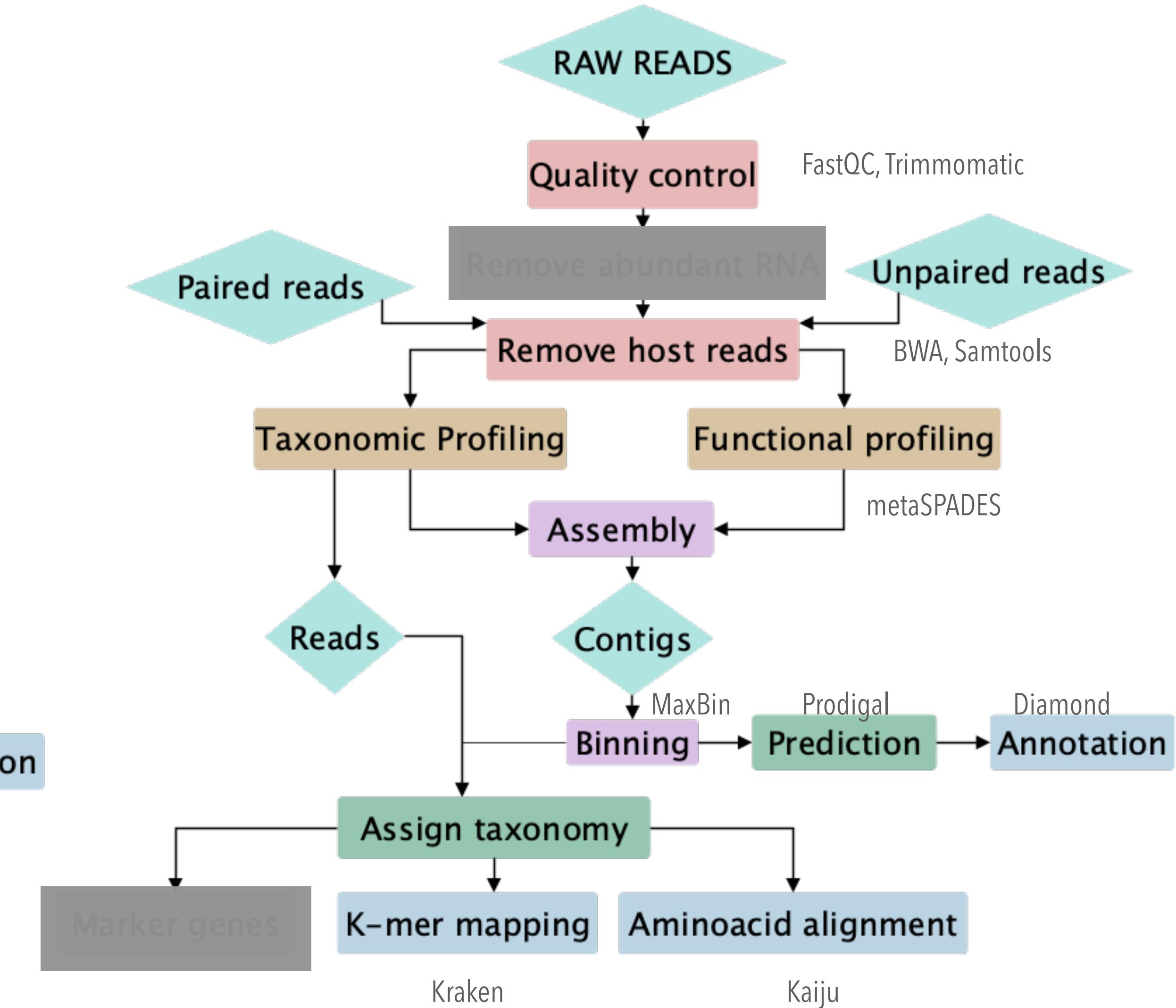
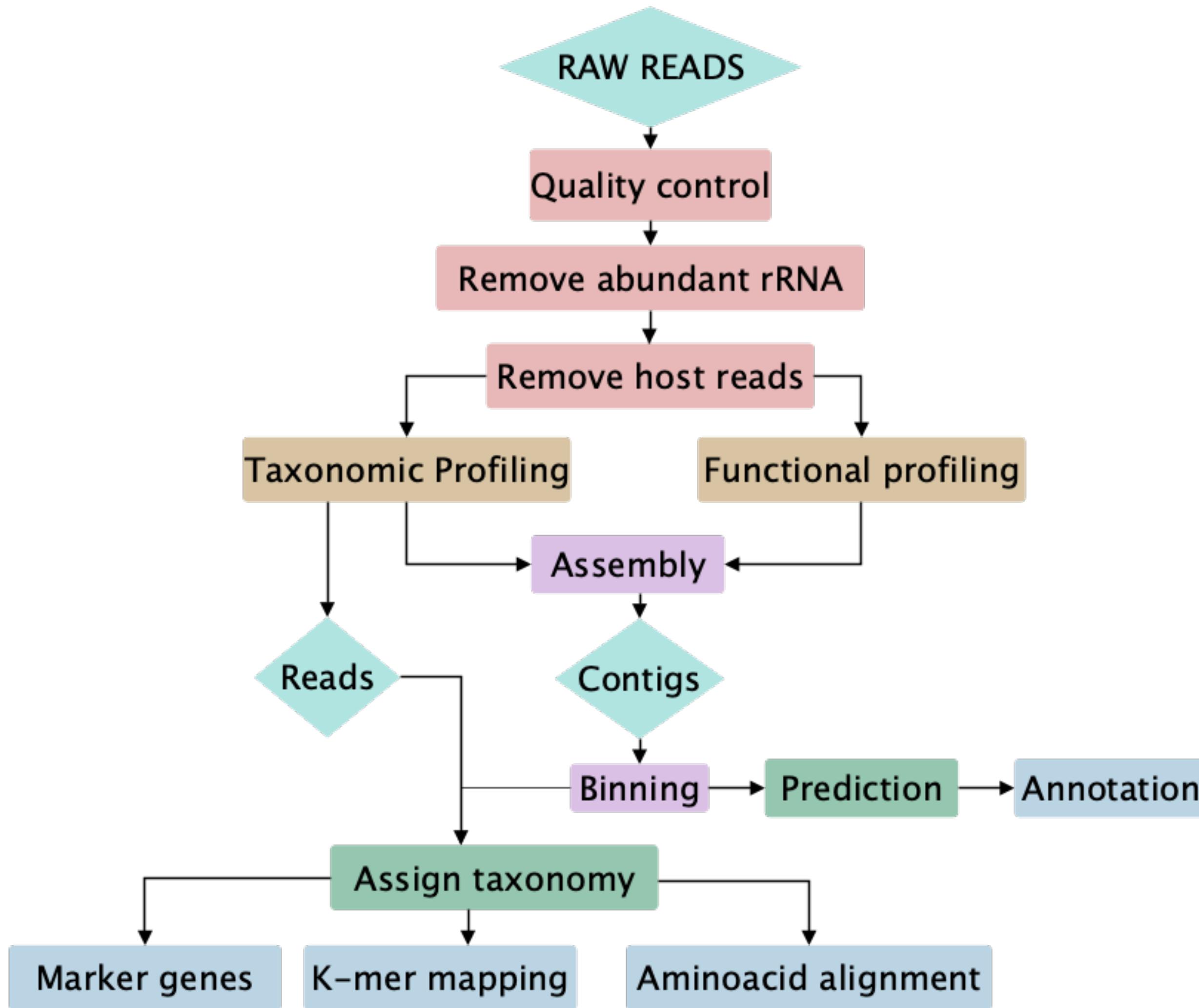
# Número de lecturas totales para cada individuo.

| Sample  | Total_reads | Mapped   | Mapedd_percent | Properly_paired | Properly_paired_percent | Singletons | Singletons_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)

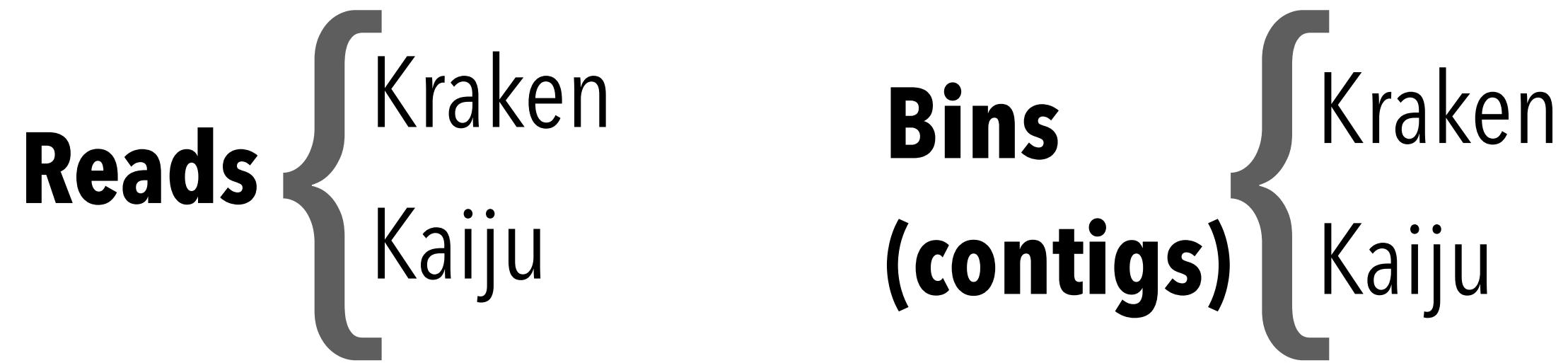
# Workflow general de Metatranscriptómica

# Modificaciones



# Análisis propuestos

## Perfil taxonómico (4)



## Perfil funcional (1)

Bins  
(contigs)

| master - 2 branches 0 tags |                      |   | Go to file           | Add file -  | Code - |
|----------------------------|----------------------|---|----------------------|-------------|--------|
|                            | valeriafloral        | error correction in pdf                             | 7de8e46 12 hours ago | 178 commits |        |
|                            | archive              | error correction in pdf                             | 12 hours ago         |             |        |
|                            | bin                  | uodate host remove script                           | 14 hours ago         |             |        |
|                            | data                 | update readme and organize folders and subfolders   | 16 hours ago         |             |        |
|                            | parkinsonlabtutorial | remove indexing because it was added to the scri... | 14 days ago          |             |        |
|                            | .gitignore           | update transcriptomic worflow                       | 13 days ago          |             |        |
|                            | README.md            | updateindex in removehost script                    | 15 hours ago         |             |        |
|                            | workflow.png         | modify workflow                                     | 15 hours ago         |             |        |

README.md

**Role of endophytic fungi in the resistance of sacred fir (*Abies religiosa*) to air pollution**

### getRepository UNDER CONSTRUCTION

Air pollution by tropospheric ozone ( $O_3$ ) is causing the strong decline of sacred fir (*Abies religiosa*) in peripheral areas of Mexico City. However, within high contaminated zones, variation in the level of damage to air pollution was detected among fir individuals. These results suggest that there is genetic variability related to tolerance to ( $O_3$ ). Due to their effects on plant resistance to abiotic stresses, it is very likely that endophytic fungi present inside fir leaves are involved in resistance to air pollution.

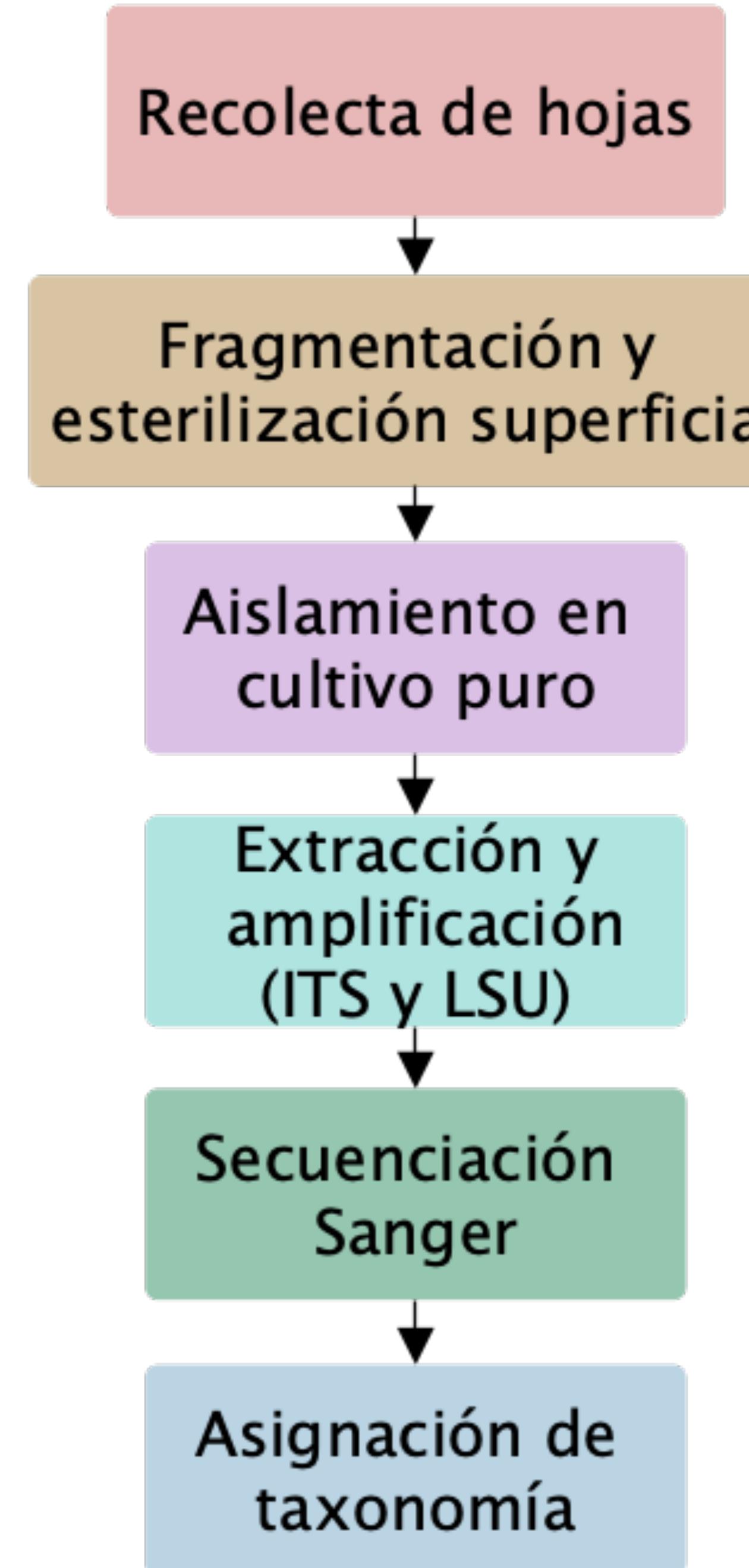
In this repository, you will find the workflow of a metatranscriptomics analysis from *Abies religiosa* individuals exposed to high ( $O_3$ ) concentrations and showed 2 different phenotypes (tolerant and damaged).

### Aims

1. To characterize the diversity of fungal endophytes inside the leaves of tolerant and damaged fir individuals.
2. To detect differential expression of fungal genes from tolerant and damaged fir individuals.

[Repositorio](#)

# Barcodeing



# Calendario propuesto

| Actividad   | Semestre<br>1 | Semestre<br>2 | Semestre<br>3 | Semestre<br>4 |
|---|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Actividades académicas<br>(clases, tutoriales, estancias, etc.) |               |               |               |               |
| Trabajo de campo  |               |               |               |               |
| Aislamiento en cultivo puro                                     |               |               |               |               |
| Trabajo de laboratorio<br>(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<br/>Definir softwares</b> | <b>Perfil taxonómico<br/>Perfil funcional</b> | <b>Análisis de<br/>diversidad<br/>taxonómica y<br/>funcional</b> |            |
| <b>Trabajo de campo</b>                                     |   |   |  |            |
| <b>Aislamiento en cultivo puro</b>                          |   |   |  |            |
| <b>Trabajo de laboratorio<br/>(Extracción de DNA y PCR)</b> |   |   |  |            |
| <b>Análisis bioinformáticos Barcoding</b>                   |   |   |  |            |
| <b>Escritura del manuscrito de tesis</b>                    |   |   |  |            |