

# Caracterización de comunidades microbianas en el río Rímac utilizando metabarcoding 16S rRNA

Camila Castillo-Vilcahuaman<sup>(1)</sup>, Pedro E. Romero<sup>(2)\*</sup>

(1) Universidad Peruana Cayetano Heredia, (2) Universidad Nacional Mayor de San Marcos

\* Email: promeroc@unmsm.edu.pe

GenLab  
del Perú SAC



## Introducción

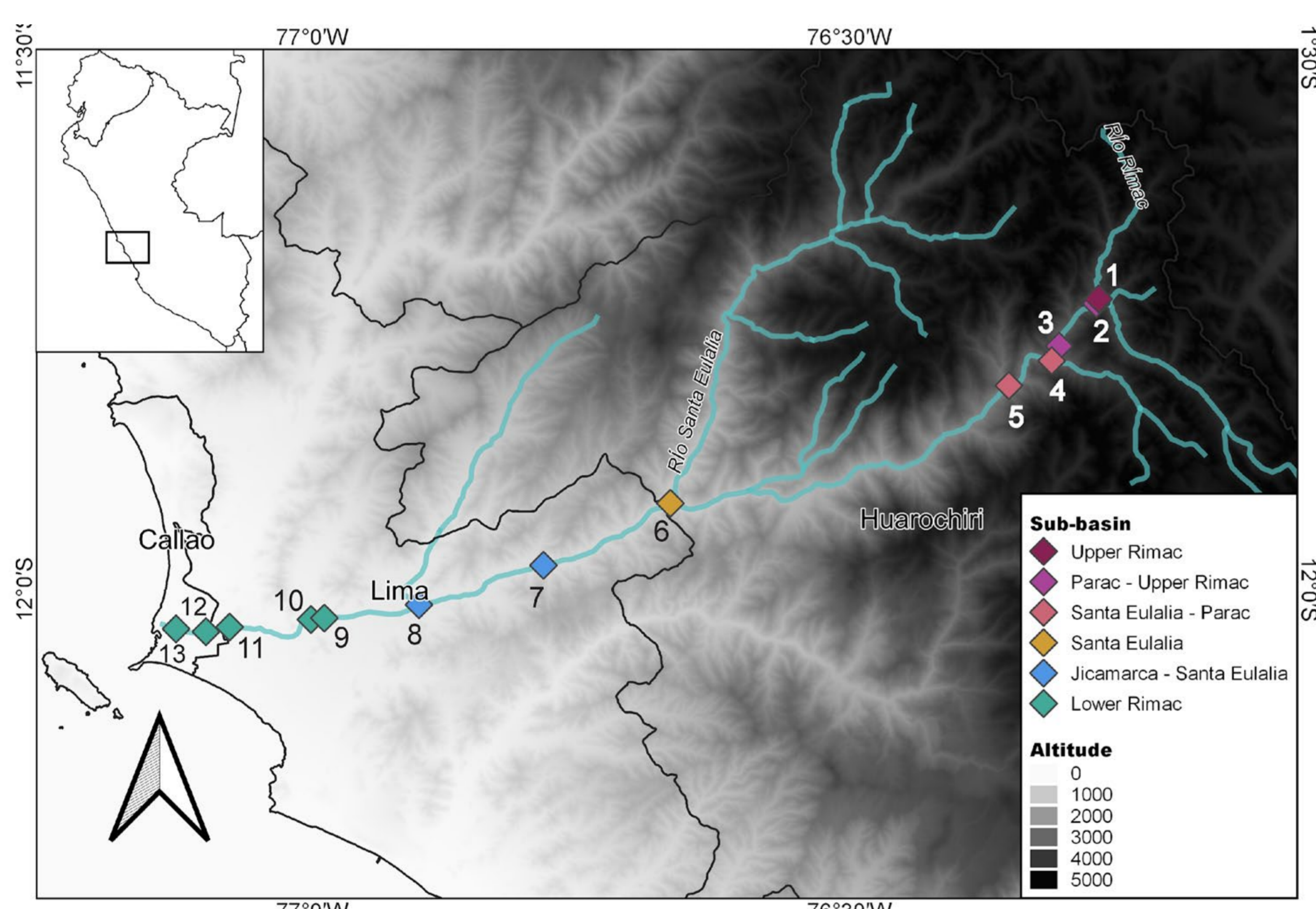
El río Rímac es la principal fuente de agua de la mega-ciudad de Lima. El río está contaminado por relaves mineros en el Alto Rímac, por aguas residuales y agrícolas en su región media y por aguas residuales industriales y urbanas en la parte baja de su recorrido (1). En la actualidad se carece de un tratamiento eficiente de las aguas residuales. Sin embargo, aunque se sabe que la biodiversidad se ha visto afectada a lo largo de los años, no se conoce cómo la contaminación del río ha afectado la diversidad microbiana. Sólo se han realizado reportes de calidad del agua buscando sobre todo coliformes comunes como *Citrobacter*, *Enterobacter* o *Escherichia* (2).

Nuestro objetivo fue comparar los patrones de diversidad en las subcuencas del río Rímac. Estos patrones son diferentes entre subcuencas. La frecuencia de las diferentes clases bacterianas también cambió entre los diferentes puntos de muestreo tomados a lo largo del río. Este estudio es de carácter exploratorio y constituye un estudio inicial de la diversidad microbiana. Podría utilizarse para futuras exploraciones de la biodiversidad en este ecosistema y evaluaciones ligadas a salud pública y monitoreo ambiental.

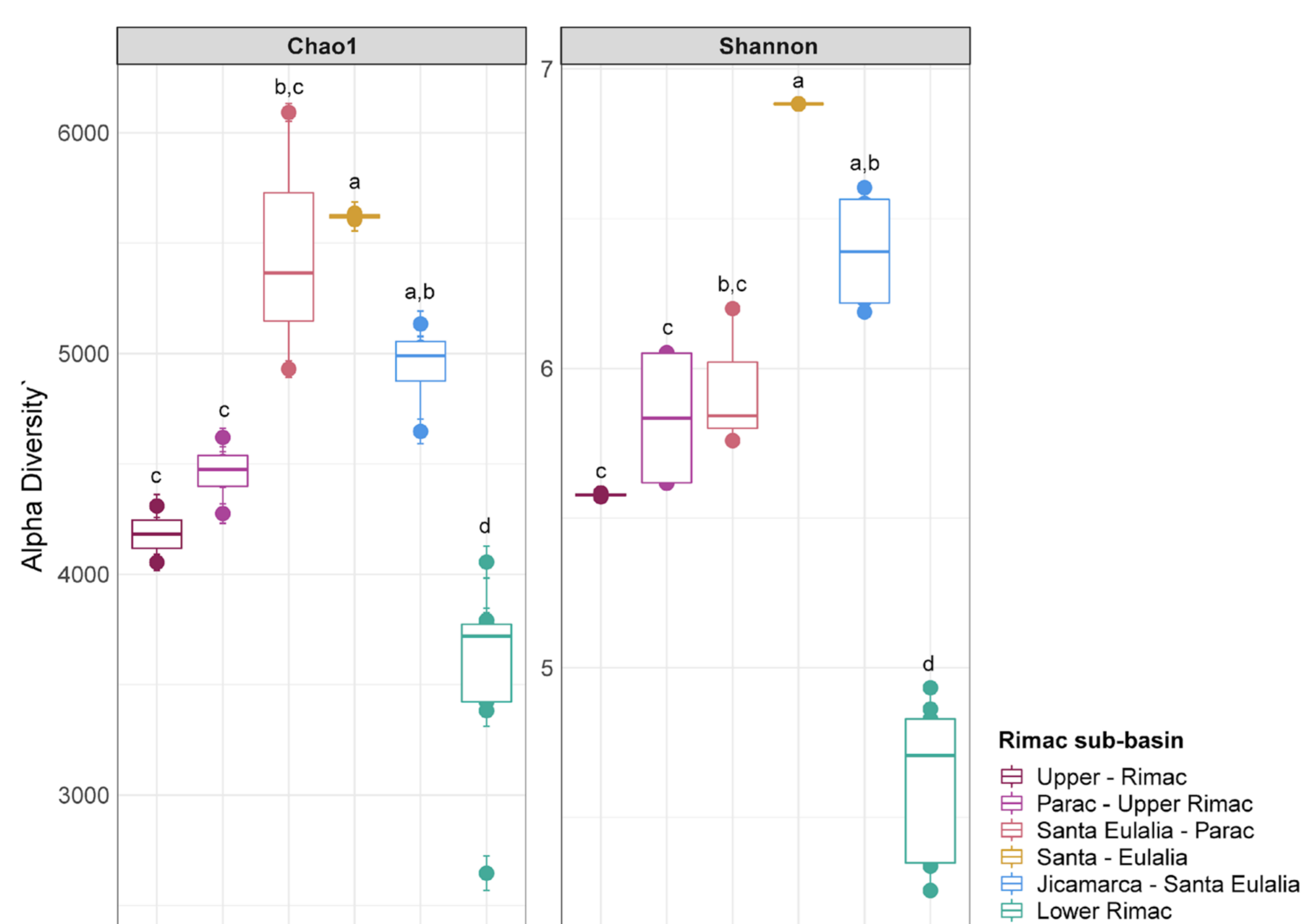
## Metodología

Se muestreó el agua del río en 13 puntos a lo largo de su cuenca en enero de 2019 (Fig. 1). Se utilizaron botellas de plástico estériles para muestrear aproximadamente 1,5 L de agua superficial. Las muestras se filtraron utilizando filtros Sterivex de 0,2 µm. El ADN total se aisló utilizando el kit PowerWater DNA (Qiagen). Luego, se siguió el protocolo estándar de preparación de bibliotecas genómicas de Illumina, que consistió en la amplificación de la región 16S rRNA V3-V4. Todas las muestras se agruparon y secuenciaron utilizando el kit MiSeq v3 Reagent (Illumina) en el instrumento MiSeq (Illumina).

Las lecturas de secuenciación se analizaron utilizando DADA2 en R v.3.6.3 (3). Utilizamos DADA2 para la asignación taxonómica frente a la base de datos ribosomal SILVA v.138 (4) con la función "assignTaxonomy". Se utilizaron el índice Chao1 y el índice de Shannon, ambos estimados con el paquete phyloseq (5). Se utilizó un escalado multidimensional (MDS) basado en una matriz de similitud de Bray-Curtis para comparar la diversidad beta entre localidades.



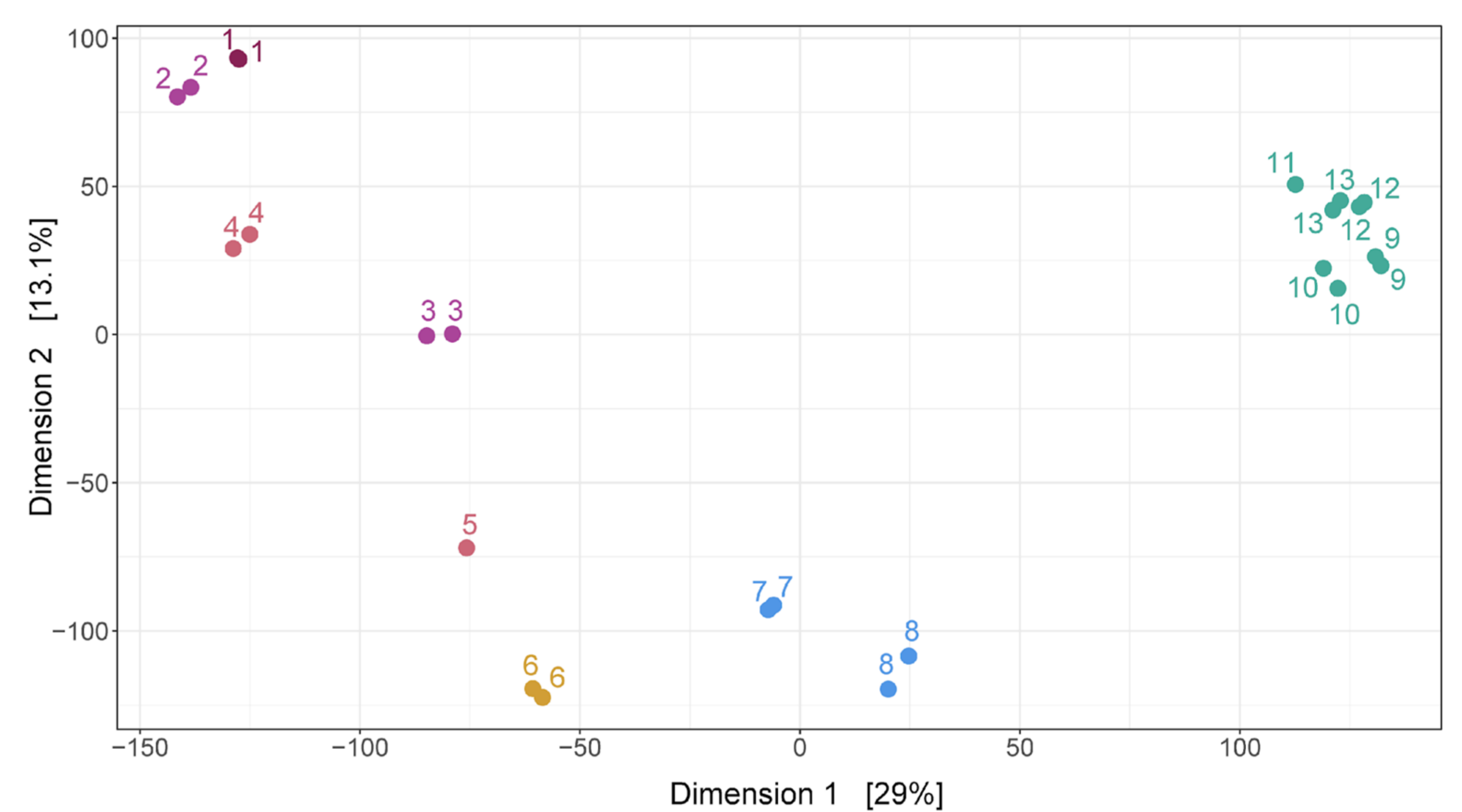
**Figura 1. Puntos de muestreo.** Sub-cuencas del río Rímac analizadas en esta investigación. Los colores representan las diferentes sub-cuencas. Morado: Alto Rímac, Celeste: Medio Rímac, Verde: Bajo Rímac



**Figura 2. Diversidad alfa.** Los índices de Chao y Shannon indican una menor diversidad en la sub-cuenca del Bajo Rímac donde se encuentra el área Metropolitana de la mega-ciudad de Lima. Las letras indican la significancia entre las medias de diversidad de las subcuencas.

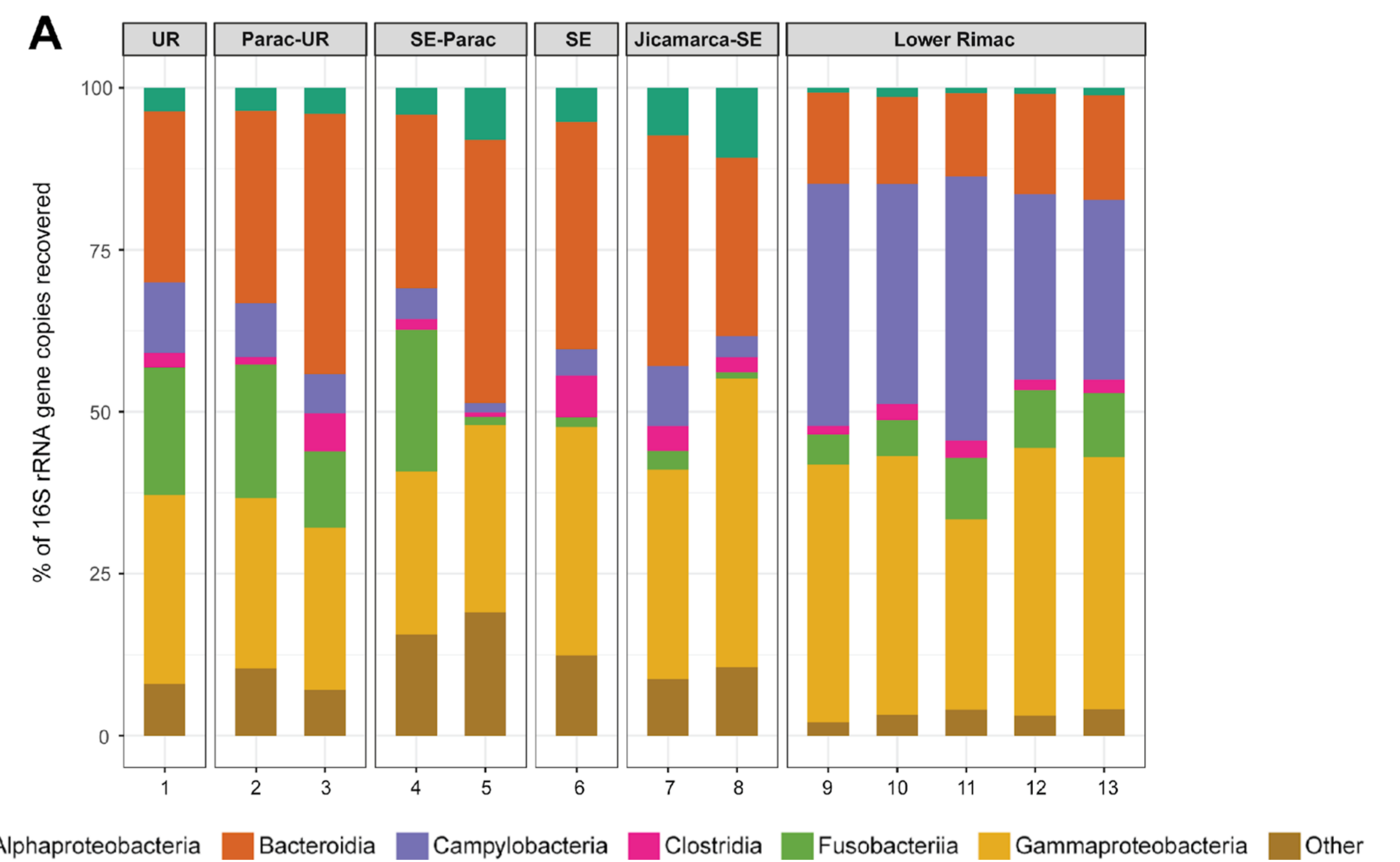
## Resultados y discusión

El metabarcoding 16S rRNA produjo una media de 244 mil lecturas por muestra. Luego del control de calidad, se obtuvo una media de 90 mil lecturas por muestra. Se identificaron 23 682 ASV. La riqueza (índice Chao1) y diversidad (índice Shannon) fue significativamente menor para el Bajo Rímac (Fig. 2). En el análisis MDS, las muestras del Bajo Rímac se agrupan estrechamente y son menos similares en comparación con otras subcuencas (Fig. 3). Las clases Alphaproteobacteria, Bacteroidia, Campylobacteria, Clostridia, Fusobacteriia, y Gammaproteobacteria fueron consistentemente frecuentes a lo largo de todas las zonas. Fusobacteriia disminuye desde Chacahuaro (Santa Eulalia-Parac) hasta Huachipa (Jicamarca- Santa Eulalia) (Fig. 4). La frecuencia de Campylobacteria aumenta en la zona del Bajo Rímac (Área Metropolitana).



**Figura 3. Diversidad beta.** El análisis MDS muestra la similitud entre las comunidades microbianas cerca al área de Lima Metropolitana (Bajo Rímac). Las sub-cuencas alta y media son más diversas entre sí. Los números corresponden a las localidades de la Figura 1.

El Bajo Rímac es la principal fuente de agua para el área metropolitana de Lima. Las comunidades microbianas en esta sub-cuenca están influenciadas por contaminación (heces humanas y aguas residuales domésticas). Las comunidades microbianas en ambientes acuáticos de altura aún no han sido estudiadas en profundidad. En la literatura, encontramos pocas caracterizaciones usando secuenciación 16S rRNA, especialmente en lagos. En todos los casos, la clase Alphaproteobacteria es una de las más frecuentes.



**Figura 4. Frecuencias de las clases bacterianas más comunes.** En la sub-cuenca baja (área Metropolitana) existe una mayor frecuencia de Campylobacteria, en especial el género *Arcobacter*, una especie considerada como patógeno emergente e indicador de contaminación fecal.

## Conclusiones

Las comunidades microbianas cerca al área metropolitana de Lima son menos diversas probablemente por efecto de la contaminación del río que ejerce una gran presión selectiva. Las comunidades microbianas en puntos de gran altitud son similares a otras comunidades acuáticas de gran altitud en todo el mundo. Estudios de enfoque metagenómico posiblemente indicarán la presencia de genes de resistencia a metales pesados en las zonas altoandinas y a antimicrobianos en las cuencas media y, especialmente, en el área de Lima Metropolitana.

## Referencias

- Bautista M et al. Occurrence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in raw water samples from the Rímac River, Peru. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018;25(12):11454–67. PMID:29423699
- Buccheri MA et al. Investigating microbial indicators of anthropogenic marine pollution by 16S and 18S High-Throughput Sequencing (HTS) library analysis. *FEMS Microbiol Lett.* 2019;366(14). PMID:31418783
- Callahan BJ et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods.* 2016;13(7):581–3. PMID:27214047
- Quast C et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 2013;41:D590–6. PMID:23193283
- McMurdie PJ and Holmes S. phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS One.* 2013;8(4):e61217. PMID:23630581

## Agradecimientos:

