



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Caracterización metagenómica de genes asociados a la síntesis y resistencia de compuestos antimicrobianos en suelos de manglar

Alejandro Sepúlveda Correa

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Ciencias Forestales
Medellín, Colombia
2021

Caracterización metagenómica de genes asociados a la síntesis y resistencia de compuestos antimicrobianos en suelos de manglar

Alejandro Sepúlveda Correa

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Bosques y Conservación

Directores:

Profesor titular Jaime Polanía, *Dr.rer.nat.*

Profesor Javier Vanegas Guerrero, *Ph.D.*

Línea de Investigación:

Componente físico, biológico, químico y geológico del medio marino e hídrico continental

Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Ciencias Forestales
Medellín, Colombia
2021

*A mi familia, especialmente a mi papá,
Julio Sepúlveda Arango, y mi mamá, Luz
Mary Correa Patiño.*

Agradecimientos

Agradezco al profesor Jaime Polanía, de la Universidad Nacional de Colombia, quien no solo es mi director en la presente tesis, también es mi modelo a seguir en mi formación como científico e investigador; y a mi codirector, el profesor Javier Vanegas, de la Universidad Antonio Nariño, quien me abrió las puertas de su investigación.

También agradezco a mi familia y a Yennifer por compartir conmigo en medio de la experiencia de escribir esta tesis y hacer más amenos los tiempos de la pandemia.

Este trabajo estuvo enmarcado dentro del proyecto “Diversidad funcional de microorganismos asociados al ciclaje de C, N y P en el manglar la Ranchería (La Guajira) mediante un acercamiento de metatranscriptómica”, contrato 529/14, cofinanciado por Colciencias y las universidades Antonio Nariño y Nacional de Colombia Sede Medellín.

Resumen

Los manglares responden a factores bióticos y abióticos, como la salinidad variable y el estrés antropogénico (por ejemplo, la contaminación por desechos urbanos). Esos factores también pueden afectar a las poblaciones de microorganismos e incluso a la relativa abundancia de genes que intervienen en las respuestas biológicas. Esta investigación tenía por objeto identificar los genes asociados con la resistencia y la biosíntesis de los compuestos antimicrobianos en los suelos de manglares sometidos a salinidades contrastantes. El ADN total se extrajo de muestras de suelo rizosférico de tres áreas con diferentes salinidades en un manglar contaminado con aguas residuales en la desembocadura del río Ranchería (La Guajira, Colombia) para su secuenciamiento mediante Illumina HiSeq 2500. El análisis de la diversidad funcional y taxonómica reveló un dominio de 51 familias y 182 géneros de actinobacterias. Las vías de biosíntesis más comunes fueron para la estreptomicina y los monobactámicos. Fue posible asociar 43 genes relacionados con la síntesis de compuestos antimicrobianos, y la abundancia de 24 de ellos se vio considerablemente influida por la salinidad. El aumento de la concentración de sal influyó en las vías metabólicas y en la abundancia diferencial de los genes asociados con la síntesis de compuestos antimicrobianos (por ejemplo, *rfbB* / *rffG*, *INO1* / *ISYNA1*, *rfbA* / *rffH*, *sat* / *met3*, *asd*, *lysC*, *proA*, *aspB*, *fabG*). Además, de los 29 genes implicados en la resistencia intrínseca a los antibióticos, 16 estaban influidos significativamente por la salinidad (por ejemplo, *aacA*, *oleC4*, *oleC5*, *vgb*, *acrB* / *mexB* / *adeJ* / *smeE* / *mtrD* / *cmeB*, *bpeF*, *mexF*). Se concluye que los mecanismos de tolerancia y adaptabilidad a las condiciones de estrés salino favorecerían la síntesis de compuestos antimicrobianos en los manglares sujetos a contaminación por aguas residuales.

Palabras clave: ecología microbiana, metabolitos secundarios, resistencia a antibióticos, ambientes costeros áridos.

Metagenomic characterization of genes associated with the synthesis and resistance of antimicrobial compounds in mangrove soils.

Abstract

Mangroves respond to biotic and abiotic factors, such as variable salinity and anthropogenic stress (e.g., pollution from urban waste). Such factors may also affect populations of microorganisms and even the relative abundance of genes involved in biological responses. This research aimed to identify genes associated with resistance and biosynthesis of antimicrobial compounds in mangrove soils subjected to contrasting salinities. Total DNA was extracted from rhizospheric soil samples from three areas with different salinities in a wastewater contaminated mangrove at the Ranchería River's mouth (La Guajira, Colombia) for sequencing using Illumina HiSeq 2500. Functional and taxonomic diversity analysis revealed a domain of 51 families and 182 genera of actinobacteria. The most common biosynthesis pathways were for streptomycin and monobactams. It was possible to associate 43 genes associated with the synthesis of antimicrobial compounds, and the abundance of 24 of them was significantly influenced by salinity. The increase in salt concentration influenced the metabolic pathways and the differential abundance of genes associated with the synthesis of antimicrobial compounds (e.g., *rfbB* / *rffG*, *INO1* / *ISYNA1*, *rfbA* / *rffH*, *sat* / *met3*, *asd*, *lysC*, *proA*, *aspB*, *fabG*). In addition, out of 29 genes involved in intrinsic antibiotic resistance, 16 were significantly influenced by salinity (e.g. *aacA*, *oleC4*, *oleC5*, *vgb*, *acrB* / *mexB* / *adeJ* / *smeE* / *mtrD* / *cmeB*, *bpeF*, *mexF*). It is concluded that the mechanisms of tolerance and adaptability to the conditions of saline stress would favor the synthesis of antimicrobial compounds in mangroves subject to contamination by wastewater.

Keywords: Microbial ecology, secondary metabolites, antibiotics resistance, arid coastal environments.

Contenido

	Pág.
Agradecimientos	iv
Resumen	v
Abstract	vi
Lista de figuras	viii
Lista de tablas	x
Lista de unidades y abreviaturas	xi
Introducción	1
Materiales y métodos	5
Sitios de muestreo	5
Recolección de muestras	6
Parámetros fisicoquímicos	7
Extracción y secuenciamiento de ADN	7
Análisis bioinformático	8
Análisis estadístico	8
Resultados	10
Salinidad versus abundancia de actinobacterias	10
Salinidad versus genes asociados a biosíntesis de compuestos antimicrobianos	12
Salinidad versus abundancia de ARG	18
Genes de biosíntesis y resistencia antimicrobiana versus variables fisicoquímicas	23
Discusión	27
Conclusiones	33
Bibliografía	35

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1: Mapa de ubicación de los sitios de recolección de suelo rizosférico de <i>Avicennia germinans</i> en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira (El Riito).	6
Figura 2: Perfiles taxonómicos de las bacterias identificadas en los sitios de recolección de suelos rizosféricos bajo salinidades contrastantes en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015).	11
Figura 3: Análisis de componentes principales (APC) en <i>STAMP</i> v.2.1.3. de genes provenientes de suelos rizosféricos bajo salinidades contrastantes en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015).	17
Figura 4: Perfiles de genes de resistencia a antibióticos (ARG) provenientes de suelos rizosféricos bajo salinidades contrastantes en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015).	20
Figura 5: Análisis de componentes principales de genes identificados y parámetros fisicoquímicos medidos en el suelo rizosférico en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015)	24
Figura 6: Matriz de correlación de Spearman de los parámetros fisicoquímicos y los genes de biosíntesis de compuestos antimicrobianos identificados en el suelo rizosférico en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015).	25
Figura 7: Matriz de correlación de Spearman de los parámetros fisicoquímicos y los ARG identificados en el suelo rizosférico en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015).	26

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1: Vías metabólicas de producción de antibióticos y sus recuentos en bacterias identificadas en suelos rizosféricos bajo salinidades contrastantes en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015).	12
Tabla 2: Genes encontrados en las diferentes vías metabólicas de biosíntesis de antibióticos en bacterias identificadas en suelos rizosféricos en tres salinidades contrastantes en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015) y sus respectivas abundancias.	14
Tabla 3: Genomas detectados en NCBI con el gen de interés y géneros pronosticados con mayor abundancia (con gen de interés) provenientes de suelos rizosféricos en tres salinidades contrastantes en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015).	17
Tabla 4: ARG identificados, sus mecanismos y tipos de resistencia y abundancias en salinidades contrastantes en suelos rizosféricos en tres salinidades contrastantes en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015).	21

Lista de unidades y abreviaturas

Unidades

Símbolo	Término
$^{\circ}\text{C}$	Temperatura en grados Celsius
$\text{mm}\cdot\text{a}^{-1}$	Precipitación anual en milímetros por año
h	Brillo solar en horas
$\text{kWh}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$	Irradiación global horizontal en kilovatios hora por metro cuadrado por día
ppt	Salinidad en partes por mil
$\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$	Conductividad eléctrica en microsiemens por centímetro

Abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>ADN</i>	Ácido desoxirribonucleico
<i>ARG</i>	Genes antibiótico resistentes
<i>COP</i>	Contaminantes orgánicos persistentes
<i>EDC</i>	Compuestos disruptores endocrinos
<i>HAP</i>	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
<i>HGT</i>	Transferencia horizontal de genes
<i>NRPS</i>	Péptidos no ribosomales
<i>PCA</i>	Análisis de componentes principales
<i>PPCP</i>	Productos farmacéuticos y de cuidado personal
<i>CE</i>	Conductividad eléctrica

Introducción

Los manglares son humedales intermareales, que se forman a lo largo de las líneas costeras de las zonas tropicales y subtropicales en gran parte del mundo (Bryan-Brown et al., 2020). Son esenciales para el ciclo global del carbono y tienen un importante valor económico para los seres humanos (Bouillon et al., 2008). Nagelkerken et al. (2008) y Polidoro et al. (2010) se refieren a ellos como puntos calientes de biodiversidad, pero también desempeñan un papel protector y funcional significativo en el equilibrio ecológico de los biomas costeros (Nathan et al., 2020). También brindan servicios ecosistémicos, entre ellos: la prevención de la erosión de las playas (Koch et al., 2009), la protección de las comunidades costeras de eventos meteorológicos extremos (Ouyang et al., 2018; Hochard et al., 2019), un considerable almacenamiento de cantidades de carbono, y su contribución para mitigar el cambio climático global, entre otros (Atwood et al., 2017). Pese a esto, están amenazados diversos procesos, tales como: el aumento del nivel de mar (Schuerch et al., 2018; Saintilan et al., 2020) o procesos antropogénicos, que incluyen la deforestación (Alongi, 2002; Duke, 2007) y la contaminación química con productos tóxicos procedentes de las aguas residuales continentales. Entre estos productos cabe mencionar los metales traza, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), los contaminantes orgánicos persistentes (COP), los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP), y los compuestos disruptores endocrinos (EDC) (Lewis et al., 2011; Bayen, 2012). A su vez, Ouyang y Guo (2016) sostienen que tales productos pueden ser eliminados, principalmente, por la erosión de las mareas, la asimilación de las plantas y el metabolismo microbiano.

En los suelos de manglares existe una alta diversidad microbiana, que es fundamental para la productividad, la conservación y la recuperación de dichos ecosistemas (Dos Santos et al., 2011). Estos microorganismos se enriquecen durante los procesos de sucesión natural (Chen et al., 2016) y juegan un papel vital en la regulación de los ciclos biogeoquímicos de los ecosistemas costeros (Alongi, 1988). También favorecen la

metanogénesis y los procesos redox, como la desnitrificación, la fijación de nitrógeno, la oxidación de hidrógeno y la reducción de sulfato en los sedimentos ricos en carbono orgánico en condiciones anaeróbicas (Krishnan y Bharathi, 2009; Ramírez-Flandes et al., 2019). Estas comunidades de microorganismos están sometidas a condiciones ambientales tales como la salinidad alta y el estado anaeróbico fluctuante, relacionados con la proximidad al mar y la variación de las mareas (Ferreira et al., 2010); así como a tensores antrópicos y a fuentes limitadas de nutrientes.

Las condiciones y tensores antes mencionados generan una fuerte presión de selección, que tiene como resultado evolutivo cambios en los patrones ecológicos, taxonómicos y funcionales de las comunidades microbianas y, además, modificaciones a su distribución y respuesta adaptativa en las áreas donde la contaminación es persistente (Rigonato et al., 2018). Para ello, utilizan diferentes estrategias de supervivencia, como la degradación de contaminantes mediante codificación de enzimas o la producción de metabolitos secundarios bioactivos y/o compuestos antimicrobianos. A su vez, los metabolitos y los compuestos inhiben algunas otras comunidades circundantes, favorecen la supervivencia de los manglares y les proporcionan una ventaja selectiva para obtener nutrientes y colonizar espacios (Sengupta et al., 2015; Mullis et al., 2019; Khan y Rao, 2019). Mann (2001) y Sangkanu et al. (2017) han informado sobre el interés farmacéutico que hay para comprender la biosíntesis de estos compuestos, que pueden tener actividad enzimática antitumoral e inmunosupresora o un potencial terapéutico, como compuestos antimicrobianos (Strohl, 2004; Passari et al., 2018).

La secuenciación de nueva generación ha permitido caracterizar la diversidad funcional microbiana del manglar y mostrar un alto porcentaje de actinobacterias (Udwary et al., 2007; Andreote et al., 2012; Sengupta et al., 2015). En China, Japón e India han sido registradas patentes de antibióticos provenientes de sus manglares y se ha propuesto a las actinobacterias como fuente prometedora y productiva de nuevos compuestos bioactivos (Zheng et al., 2000; Boudemagh et al., 2005; Arumugam et al., 2011). Los compuestos producidos por estas bacterias podrían controlar otros microorganismos, tales como *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e incluso patógenos resistentes a antibióticos (ARG) de importancia médica (Sengupta et al., 2015). Entre los compuestos más conocidos se encuentran los péptidos no ribosómicos (NRPS)

con potencial antitumoral, antioxidante y antimicrobiano (Rajivgandhi et al., 2018; Tan et al., 2019) y otras estructuras químicas, como policétidos, macrólidos, indoles, aminoglucósidos y terpenos, que son una fuente de metabolitos secundarios bioactivos importantes para usos médicos, agrícolas y veterinarios (Dalisay et al., 2013; Law et al., 2019). Al mismo tiempo pueden presentar abundancias relativamente altas de ARG para contrarrestar el efecto biocida de los mismos NRPS (Ghaderpour et al., 2015). Sin embargo, el conocimiento de la distribución de actinobacterias según la salinidad, junto con la abundancia de compuestos bioactivos y ARG en sedimentos del manglar, es limitado.

Por otra parte, las bacterias con resistencia extendida a múltiples antibióticos son cada vez más frecuentes y podrían causar una crisis de salud global ante el inminente aumento de infecciones no tratables, cuya aparición es más acelerada que el desarrollo de nuevos medicamentos (Blair et al., 2015). Las condiciones abióticas de salinidad y polución ambiental podrían condicionar los microbiomas y generar reservorios de ARG en fuentes ambientales (Ben et al., 2019); adicionalmente, la presión selectiva de los antibióticos también podría ser una de las razones para el desarrollo de la resistencia a los antimicrobianos en entornos naturales y extremos (Walsh y Duffy, 2013). Algunos residuos de agentes antibacterianos pueden afectar a los microorganismos sedimentarios, promover la emergencia de fenotipos multirresistentes a un amplio espectro de antibióticos (Tendencia y De la Peña, 2002) y también ser propagados entre microorganismos por transferencia horizontal de genes (HGT; Summers, 2006). Los microorganismos de suelo de manglar pueden adquirir multirresistencia a diferentes antibióticos y, por lo tanto, albergar ARG con una diversidad genética considerable. De otra manera poseen genes de biosíntesis para desarrollar nuevos compuestos antimicrobianos (Jalal et al., 2010). En manglares han sido identificadas bacterias con resistencia a múltiples antibióticos, incluyendo β -lactámicos, glucopéptidos, sulfafurazol, aminoglucósidos, macrólidos, tetraciclina, aminocumarinas, lincosamidas y NRPS, frecuentemente mediado por la expresión de bombas de eflujo (Cabral et al., 2016; Imchen et al., 2018).

El presente estudio describe el perfil metagenómico de tres suelos manglárnicos con salinidades contrastantes en un sitio contaminado con aguas residuales en la desembocadura del río Ranchería, en la ciudad de Riohacha, Colombia. El objetivo principal de este estudio fue caracterizar la abundancia y la diversidad de genes asociados

a la biosíntesis y resistencia de compuestos antimicrobianos en un suelo rizosférico de un manglar semiárido en salinidades contrastantes. La descripción está basada en el análisis del ADN total obtenido de suelo rizosférico y secuenciado con la metodología de escopeta mediante la plataforma *Illumina HiSeq*. Para examinar los cambios en la estructura de las comunidades de actinobacterias en función de la salinidad, se hipotetizó que la salinidad y la polución podrían ser determinantes en la dinámica ecológica de los microorganismos del suelo del manglar, así como de los procesos metabólicos diferenciales y la producción de metabolitos secundarios bioactivos como respuesta a dicha presión selectiva.

1. Materiales y métodos

1.1 Sitios de muestreo

Se seleccionaron tres sitios con salinidades contrastantes en suelos del manglar en la desembocadura del río Ranchería del denominado brazo Riito, al NE del municipio Riohacha, capital del departamento de La Guajira, Colombia. Los sitios de muestreo corresponden a un manglar semiárido, que sufre un impacto antropogénico constante, debido a su proximidad a un muelle vehicular y la desembocadura de las aguas residuales de la ciudad de Riohacha. Tiene precipitación promedio de 50,7 mm·a⁻¹, temperatura promedio anual de 28,2°C (máximo 33,3 y mínimo 24,1°C), brillo solar promedio anual de 7,5 h e irradiación global horizontal de 5,25 kW·hm⁻²·d⁻¹ (IDEAM, 2015). Las muestras fueron recolectadas en: i) 11°33′08,4"N/72°53′59,6"W, baja salinidad intersticial (2,8 ppt), identificado como 3L, ii) 11°33′11,4"N/72°54′03,5"W, salinidad intermedia (14,6 ppt), identificado como 2M y iii) 11°33′09,05"N/72°54′01,4"W, salinidad alta (61,5 ppt) e identificado como 4H (figura 1).

Figura 1: Mapa de ubicación de los sitios de recolección de suelo rizosférico de *Avicennia germinans* en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira (El Riito).



1.2 Recolección de muestras

Tres muestras de suelo rizosférico del mangle halotolerante *Avicennia germinans* L. fueron colectadas en cada uno de los tres sitios de muestreo: en total nueve muestras biológicas *sensu* Vanegas et al. (2019). *Avicennia germinans* fue seleccionada por ser dominante en este manglar (Polanía et al., 2006). Se midió la conductividad eléctrica (CE) del agua intersticial del suelo como indicador de la salinidad, que se distribuye en los manglares ribereños o fronterizos, de acuerdo con la mezcla del agua de mar con la del río (Mitsch et al., 2009). Los puntos de salinidad más altos están influenciados por la marea alta, pues allí se sedimentan las sales, mientras que los de menor salinidad lo están principalmente en contacto estrecho con el río. Fueron clasificados como: salinidad alta: (grupo *High*) 4A, 4B y 4C (23,2% de sal, EC 38,64 mS·cm⁻¹); salinidad baja: (grupo *Low*) 3A, 3B y 3C (2,8% de sal, EC 5,27 mS·cm⁻¹) y salinidad media: (grupo *Medium*) 2A, 2B y 2C (14,61% de sal EC 20,136 mS·cm⁻¹).

Las áreas de muestreo estaban aproximadamente a 400 m del litoral y espaciadas a 95 y 58 m entre sí. De cada punto de muestreo se tomaron tres plantas de *A. germinans* de alrededor de 0,6 m de altura y a < 1 m de distancia entre sí, luego fue tomado el suelo adherido a las raíces secundarias resultante de agitar vigorosamente las plantas; las raíces no superaron los 0,5 m de profundidad. El suelo rizosférico de cada planta se depositó en tubos de centrífuga de 50 mL y se transfirió al laboratorio en hielo seco. Más tarde, se congeló a -80°C hasta su procesamiento.

1.3 Parámetros fisicoquímicos

Las propiedades fisicoquímicas del suelo se determinaron para cada una de las muestras de acuerdo con protocolos estandarizados (Horwitz, 2010). El pH y la conductividad eléctrica (CE) del suelo se midieron en una relación suelo:agua de 1:1 (p/v; *sensu* Rhoades et al., 1989) y el contenido de carbono orgánico (OC) con el método de Walkley-Black (Walkley y Black, 1934); los contenidos de iones intercambiables de Ca, K, Mg y Na se determinaron por extracción de acetato de amonio (1N, pH 7). La capacidad total de intercambio catiónico se determinó midiendo el desplazamiento de NH_4^+ debido al intercambio de NaCl (1 M) y la capacidad de intercambio catiónico efectivo (CICE) mediante la suma de ácidos y bases intercambiables. La disponibilidad de P se midió colorimétricamente a partir de 1 g de suelo mediante la reacción con molibdato de amonio (método de Bray II; *sensu* Bray y Kurtz, 1945) y el contenido de S se determinó mediante extracción con fosfato monocálcico. Los iones metálicos (Cu, Fe, Mn y Zn) se midieron mediante extracción con ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) y el boro con fosfato monobásico (azometina-H). El contenido de nitrógeno total (TN) se midió con el método semimicro Kjeldahl, y los niveles de NH_4^+ y NO_3^- por extracción con KCl 2N y destilación con MgO y aleación de Devarda (Bremner y Keeney, 1965). Finalmente, las cantidades de arcilla, limo y arena se determinaron por la técnica de Bouyoucos (1962), empapando el suelo en una solución de Calgon al 5%.

1.4 Extracción y secuenciamiento de ADN

El ADN total de las muestras de suelo fue extraído utilizando el kit de aislamiento *PowerLyzer® PowerSoil®* (QIAGEN company, Hilden, Alemania) según protocolos del

fabricante. La concentración del ADN se verificó fluorométricamente utilizando el kit de ensayo dsDNA *HS Qubit®* (Life Technologies, CA) y la integridad se verificó en gel de agarosa al 0,8%; se seleccionaron las muestras con menor barrido, mayor intensidad de la banda de alto peso molecular y una concentración > 20 ng/ml. Para obtener los metagenomas se obtuvieron 50 µL de ADN genómico en concentraciones promedio de 40 ng/µL para su secuenciamiento mediante la metodología de escopeta con la plataforma *Illumina Hiseq2500 2x150 pb paired-end* (Illumina, CA, USA).

1.5 Análisis bioinformático

La calidad de las secuencias se realizó con FastQC v0.11.2 (Andrews, 2015), seguido de un filtro y control de calidad de un puntaje de phred <20 con el software TRIMMOMATIC v0.36, utilizando los parámetros de LEADING: 15, TRAILING: 15, SLIDING WINDOW: 4:20 y MINDLEN: 100 (Bolger et al., 2014, Muñoz-García et al., 2019). Posterior a la limpieza de ADN no bacteriano y adaptadores, las secuencias fueron alineadas con el software DIAMOND V0.9 (Buchfink et al., 2015) en la base de datos de proteínas no redundantes del NCBI con los parámetros BLASTx de un 80% de identidad y un e-valor de 10⁻⁵ (Altschul et al., 1997). Estas secuencias fueron seleccionadas para las anotaciones taxonómicas y funcionales en términos de Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes -KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/>) con MEGAN5 de acuerdo a los parámetros min-support:25, min-score:80, top-percent:10 y Max Expected:105. Una vez realizadas las anotaciones se identificaron los genes asociados a síntesis y resistencia de compuestos antimicrobianos, mecanismos de resistencia, biosíntesis de metabolitos secundarios y terpenoides teniendo en cuenta las pathways y orthology en KEGG. Los genes funcionales fueron correlacionados con las abundancias de los géneros bacterianos detectados en el manglar mediante una búsqueda en NCBI de los genomas de bacterias registradas con los genes de interés.

1.6 Análisis estadístico

Las diferencias en la composición de las actinobacterias de acuerdo con la salinidad fueron examinadas mediante la correlación de Spearman y análisis de factores múltiples (De

Tayrac et al., 2009). Los recuentos de OTU se normalizaron de acuerdo con el método de escala de suma total (Paulson et al., 2013). Luego se usaron los paquetes *R vegan* y *metagenomeSeq* para los análisis de diversidad y obtención de los índices de Shannon y Simpson en función de sus abundancias. Las diferencias estadísticas entre las abundancias de los genes asociados a la síntesis de compuestos antimicrobianos, los ARG y la diversidad de actinobacterias en los diferentes puntos de muestreo con salinidades contrastantes fueron evaluados mediante análisis de varianzas ANOVA con el paquete estadístico XLSTAT de Excel. Cuando no se cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de la varianza, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis en R (versión 3.5.3, R Core Team, 2015) y se verificó con la herramienta en línea de *MicrobiomeAnalyst* (<https://www.microbiomeanalyst.ca/>; Chong et al., 2020). Las diferencias se consideraron significativas para valores con porcentaje de intervalo de confianza del 95% ($p < 0,05$). Los análisis de correlación se realizaron en R v.3.5.3 con el paquete *Corrplot*; también se realizaron análisis de componentes principales (PCA) para describir la variabilidad de los genes asociados a la síntesis y resistencia de compuestos antimicrobianos en función de las variables de salinidad y parámetros fisicoquímicos en R v.3.5.3 (paquete *Psych*) y el software *STAMP* v.2.1.3.

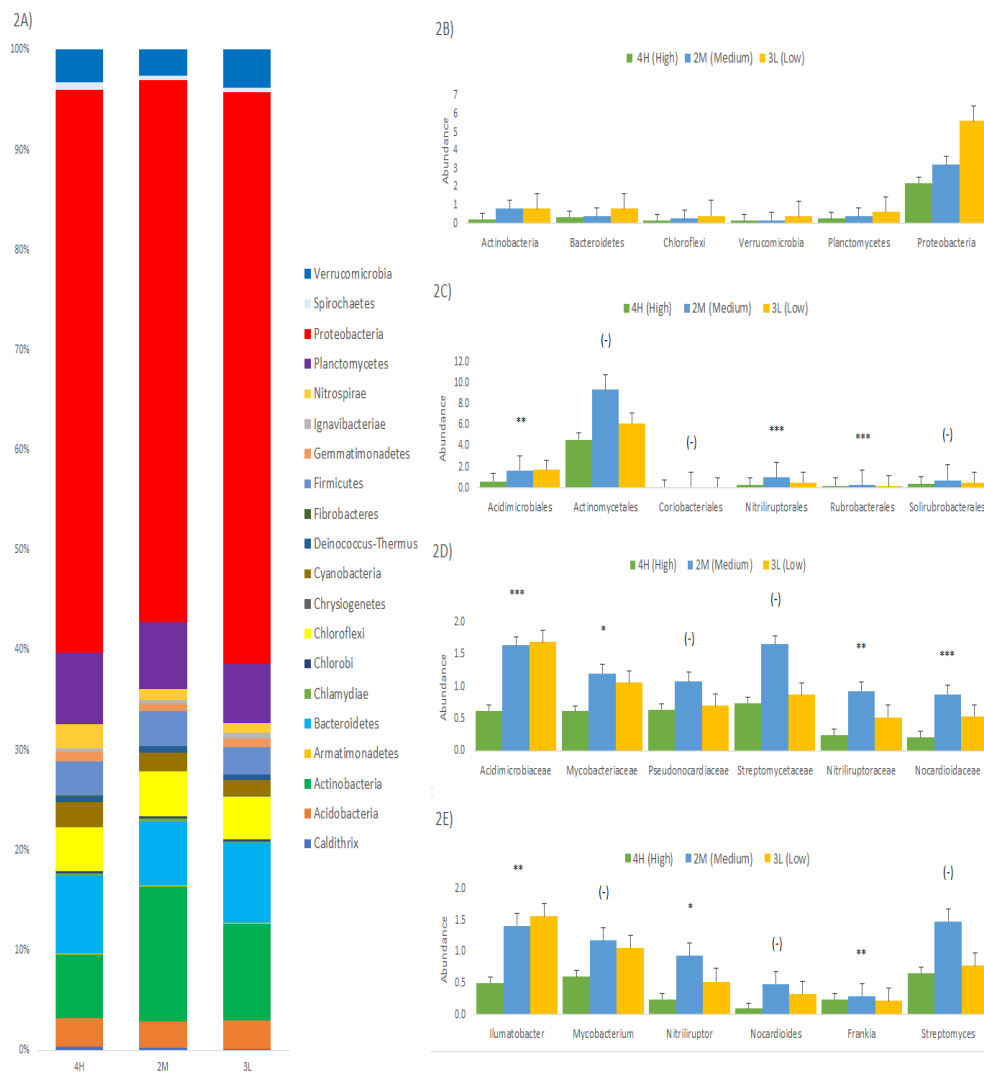
2. Resultados

2.1 Salinidad *versus* abundancia de actinobacterias

El análisis del metagenoma indicó que, en promedio, 96,2% de lecturas corresponden a bacterias, 2,8% a arqueas y 1,0% a material genético eucariota, viral o sin clasificar. De las lecturas bacterianas se recuperaron 32 filos, donde los ocho más abundantes representaron 92,4% de diversidad bacteriana total. El perfil taxonómico en los sitios de muestreo indicó una predominancia de proteobacterias y actinobacterias con 55,3 y 9,8%, respectivamente, seguido por bacteroidetes (7,3%), planctomycetes (6,5%) y chloroflexi (4,4%, fig. 2 A y B, tab. S2).

Las actinobacterias fueron representadas por siete órdenes, principalmente: actinomycetales (68,5%), acidimicrobiales (13,5%), nitriliruptorales (5,8%) y solirubrobacteriales (5,5%), con mayores recuentos en la salinidad intermedia. Las acidimicrobiales, nitriliruptorales y rubrobacteriales presentaron diferencias significativas entre salinidades (fig. 2C, tab. S3). Se detectaron 51 familias de actinobacterias representadas, principalmente, por Acidimicrobiaceae (13,5%), Streptomycetaceae (11,1%), Mycobacteriaceae (9,8%), Pseudonocardiaceae (8,3%), y Nitriliruptoraceae (5,8%; fig. 2D) con diferencias significativas en abundancias entre salinidades en 22 familias (tab. S4). Se identificaron 182 géneros, de los cuales 51 tuvieron abundancias significativamente diferentes. Los géneros más representativos fueron *Ilumatobacter* (11,9%), *Streptomyces* (9,7%), *Mycobacterium* (9,7%), *Nitriliruptor* (5,8%) y *Nocardioides* (3,1%; fig. 2E, tab. S5). Todos los taxones fueron detectados en los tres puntos de muestreo; los índices de diversidad alfa de Shannon y Simpson muestran un aumento en la uniformidad de la riqueza bacteriana y una disminución no significativa en diversidad de las comunidades en 4H (4,0 y 24,1 respectivamente) con respecto a 2M (3,8 y 20,9) y 3L (3,7 y 16,3).

Figura 2: Perfiles taxonómicos de las bacterias identificadas en los sitios de recolección de suelo rizosférico en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (en noviembre de 2015). (a) Diagrama de barras apiladas de la abundancia relativa de filos de bacterias; se destacan los 20 taxones más abundantes. (b) Abundancias de los filos de bacterias más destacados. (c) Abundancia de los órdenes de actinobacterias más destacados. (d) Abundancia de las familias de actinobacterias más destacadas. (e) Abundancia de los géneros de actinobacterias más destacados. Se muestran siete taxones más abundantes de cada categoría taxonómica. Salinidad: 4H, alta; 2M, media y 3L, baja.



2.2 Salinidad *versus* genes asociados a biosíntesis de compuestos antimicrobianos

Se obtuvieron 16.509 lecturas asociadas a la biosíntesis de metabolitos secundarios, con un recuento promedio por cada muestra de 917 (máximo 1.040 y mínimo 747), y 22 vías metabólicas. Respecto al metabolismo de terpenoides y policétidos, se obtuvieron 1.311.809 lecturas crudas, con un recuento promedio por muestra de 72.878 (max. 101.570 y min. 34.101), y 68 vías metabólicas. Se identificaron 43 genes asociados a 11 vías metabólicas de la biosíntesis de compuestos antimicrobianos (tab. 1 y 2). Nueve de las 11 vías metabólicas y 24 de los 43 genes estuvieron influenciados significativamente por la salinidad; únicamente las de biosíntesis de antibióticos de enediyne y tetraciclina, que fueron las menos abundantes, no lo estuvieron. Seis vías estuvieron influenciadas por la salinidad alta (biosíntesis de estreptomycin, monobactámicos, carbapenem, penicilina, cefalosporina, enedynes y metabolitos secundarios - sin clasificar), tres por la salinidad media (biosíntesis de prodigiosina, neomicina, kanamicina y gentamicina y tetraciclina), y dos por la salinidad baja (biosíntesis del grupo de antibióticos de vancomicina y novobiocina) (tab. 1).

Tabla 1: Vías metabólicas de producción de antibióticos y sus recuentos en bacterias identificadas en suelos rizosféricos a salinidades contrastantes en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015). Salinidad: 4H, alta; 2M, media y 3L, baja. Significancias: ***: $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$. Las vías metabólicas que no tienen diferencias significativas están marcadas con (-).

Vía metabólica/biosíntesis	Lecturas por salinidad			% lecturas	P valor (ZIG)	FDR	Genes en KEGG
	3L	2M	4H				
Estreptomycin	165,98	174,40	190,45	29,46	*	0,041	10/18
Monobactámicos	165,09	166,23	171,65	27,92		0,008	11/28
Grupo de antibióticos de vancomicina	90,37	77,18	89,25	14,25		0,008	1/29
Prodigiosina	75,88	77,98	77,07	12,82	***	0,006	3/20

Tabla 1: (continuación).

Vía metabólica/biosíntesis	Lecturas por salinidad			% lecturas	P valor	FDR	Genes en KEGG
	3L	2M	4H				
Carbapenem	34.10	37.39	44.34	6.43	*	0.008	2/19
Novobiocina	35,77	31,32	34,88	5,66	**	0,016	7/30
Metabolitos secundarios	11,47	12,62	14,79	2,16		0,020	2/20
Penicilina y cefalosporina	4,40	4,66	5,78	0,82	*	0,073	5/15
Neomicina, kanamicina y gentamicina	1,26	1,53	1,08	0,21	**	0,002	1/57
Antibióticos de enediyne	1,05	1,48	1,94	0,20	(-)	(-)	2/73
Tetraciclina	0,06	0,16	0,12	0,02			1/17

Las vías metabólicas más abundantes fueron la biosíntesis de estreptomicina (29,5% de las lecturas) y monobactámicos (27,9%), seguidas por la vancomicina (14,3%) y la prodigiosina (12,8%). Respecto a los genes asociados a compuestos antimicrobianos, en general fueron más abundantes en las salinidades altas; los más prevalentes fueron rfbB, rffG (K01710, biosíntesis de estreptomicina y vancomicina) con el 11,61% de lecturas, seguidos de fabG y OAR1 (K00059, producción de la prodigiosina) con 7,1%; sat y met3 (K00958) y asd (K00133) importantes en la síntesis de los monobactámicos con 5,4% y 5,1% respectivamente y INO1, ISYNA1 (biosintética de estreptomicina) con el 5,5% de las lecturas. Todos los genes más abundantes en cada una de las nueve vías estuvieron influenciados por la salinidad (tab. 2). Los genes de biosíntesis de compuestos antimicrobianos fueron correlacionados con las abundancias de los géneros bacterianos detectados en el manglar (tab. 3 y S6).

Tabla 2: Genes encontrados en las diferentes vías metabólicas de biosíntesis de antibióticos en bacterias identificadas en suelos rizosféricos bajo salinidades contrastantes en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015) y sus respectivas abundancias. Salinidades: alta: 4H, media: 2M, baja: 3L. Significancias: ***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$. Genes sin diferencias estadísticamente significativas según la salinidad marcados con (-).

Biosíntesis/genes	Código KEGG	3L	2M	4H	% lecturas	P-valor
Estreptomicina						
rfbB, rffG; [EC:4.2.1.46]	K01710	63,51	63,96	77,11	11,61	**
INO1, ISYNA1; [EC:5.5.1.4]	K01858	25,68	34,57	37,2	5,53	***
rfbA, rffH; [EC:2.7.7.24]	K00973	25,28	25,95	29,91	4,61	***
pgm; [EC:5.4.2.2]	K01835	21,40	21,83	19,31	3,55	(-)
pmm-pgm; [EC:5.4.2.8 5.4.2.2]	K15778	11,26	9,53	8,86	1,68	(-)
IMPA, suhB; [EC:3.1.3.25]	K01092	8,09	7,27	7,99	1,33	(-)
rfbC, rmlC; [EC:5.1.3.13]	K01790	4,81	5,20	4,93	0,85	(-)
iolG; [EC:1.1.1.18 1.1.1.369]	K00010	3,14	3,24	3,02	0,53	(-)
glk; [EC:2.7.1.2]	K00845	1,26	1,53	1,08	0,22	(-)
rfbD, rmlD; [EC:1.1.1.133]	K00067	1,54	1,33	1,05	0,22	(-)
Monobactámicos						
sat, met3; [EC:2.7.7.4]	K00958	23,58	31,52	40,4	5,42	***
asd; [EC:1.2.1.11]	K00133	30,04	28,5	31,7	5,12	**
lysC; [EC:2.7.2.4]	K00928	24,51	26,5	28,94	4,54	***
cysD; [EC:2.7.7.4]	K00957	27,03	22,63	18,3	3,86	***
dapA; [EC:4.3.3.7]	K01714	20,27	20,41	20,35	3,46	(-)
cysNC; [EC:2.7.7.4 2.7.1.25]	K00955	19,68	17,78	12,6	2,84	***
dapB; [EC:1.17.1.8]	K00215	8,27	7,39	8,93	1,40	*
cysN; [EC:2.7.7.4]	K00956	7,55	7,17	5,79	1,16	**

Tabla 2: (Continuación).

Biosíntesis/genes	Código KEGG	3L	2M	4H	% lecturas	P-valor
Monobactámicos						
thrA; [EC:2.7.2.4 1.1.1.3]	K12524	2,23	2,56	2,29	0,40	(-)
lysAC; [EC:4.1.1.20 2.7.2.4]	K12526	1,14	1,02	1,58	0,21	(-)
mbtH, nocl	K05375	0,79	0,75	0,74	0,13	(-)
Carbapenem						
proA; [EC:1.2.1.41]	K00147	25,51	28,13	35,2	5,04	***
proB; [EC:2.7.2.11]	K00931	8,59	9,25	9,15	1,53	*
Novobiocina						
aspB; [EC:2.6.1.1]	K00812	16,87	15,73	19,8	2,97	**
hisC; [EC:2.6.1.9]	K00817	8,67	8,60	7,32	1,40	(-)
tyrC; [EC:1.3.1.43 1.3.1.12]	K00220	5,93	4,48	4,49	0,85	(-)
tyrA2; [EC:1.3.1.12]	K04517	1,01	0,99	1,62	0,21	*
yhdR; [EC:2.6.1.1]	K11358	1,8	0,83	0,9	0,20	*
tyrB; [EC:2.6.1.57]	K00832	1,24	0,45	0,24	0,11	***
aspC; [EC:2.6.1.1]	K00813	0,25	0,24	0,53	0,06	**
Metabolitos secundarios						
acpP	K02078	11,4	12,55	14,8	2,20	***
pntE, penE, ptlE; [EC:1.14.13.170 1.14.13.171]	K18091	0,08	0,06	0,03	0,01	(-)
Penicilina y cefalosporina						
pac; [EC:3.5.1.11]	K01434	2,98	3,51	4,73	0,64	***
cah; [EC:3.1.1.41]	K01060	0,44	0,46	0,22	0,06	(-)
cefD; [EC:5.1.1.17]	K04127	0,59	0,43	0,72	0,10	(-)
penP; [EC:3.5.2.6]	K17836	0,26	0,19	0,11	0,03	*
PENDE; [EC:2.3.1.164]	K10852	0,15	0,07	0,01	0,01	**

Tabla 2: (Continuación).

Biosíntesis/genes	Código KEGG	3L	2M	4H	% lecturas	P-valor
Neomicina, kanamicina y gentamicina						
glk; [EC:2.7.1.2]	K00845	1,26	1,53	1,08	0,22	(-)
Prodigiosina						
fabG, OAR1; [EC:1.1.1.100]	K00059	38,67	42,27	43,36	7,06	**
fabI; [EC:1.3.1.9 1.3.1.10]	K00208	29,4	29,83	28,67	4,99	(-)
fabD; [EC:2.3.1.39]	K00645	7,81	5,88	5,04	1,06	**
Grupo de antibióticos de vancomicina						
rfbB, rffG; [EC:4.2.1.46]	K01710	63,51	63,96	77,11	11,61	**
Antibióticos de enedina						
sgcE, mdpE, ncsE, kedE, calE8, pksE;	K15314	3,8	4,76	4,13	0,72	(-)
sgcE10, mdpE10, ncsE10, kedE10, calE7, pksE10.	K15315	0,35	1,19	1,13	0,15	(-)
Tetraciclina						
ctcP, cts4, prnC; [EC:1.14.19.49 1.14.19]	K14257	0,12	0,41	0,76	0,07	(-)

El análisis de componentes principales (PCA) agrupó los genes asociados a la síntesis de metabolitos secundarios con una variabilidad del 77,0% (fig. 3A). Es posible distinguir tres agrupaciones de genes de acuerdo con la salinidad. Los genes asociados a la síntesis de terpenoides presentaron una variabilidad del 67,7%, lo que muestra que aún se pueden agrupar de acuerdo con la salinidad, a pesar de su mayor dispersión (fig. 3B).

PCA explicó el 69,1% de la variabilidad. Sin embargo, los genes están más dispersos, especialmente los de las salinidades medias y no es posible distinguir agrupaciones de acuerdo con dicha variable (fig. 3C).

Figura 3: Análisis de componentes principales (PCA) en *STAMP* v.2.1.3. de genes provenientes de suelo rizosférico en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015), asociados a: (a) síntesis de metabolitos secundarios. (b) síntesis de terpenoides. (c) resistencia antimicrobiana; bajo regímenes de salinidades alta (High), media (Medium) y baja (Low).

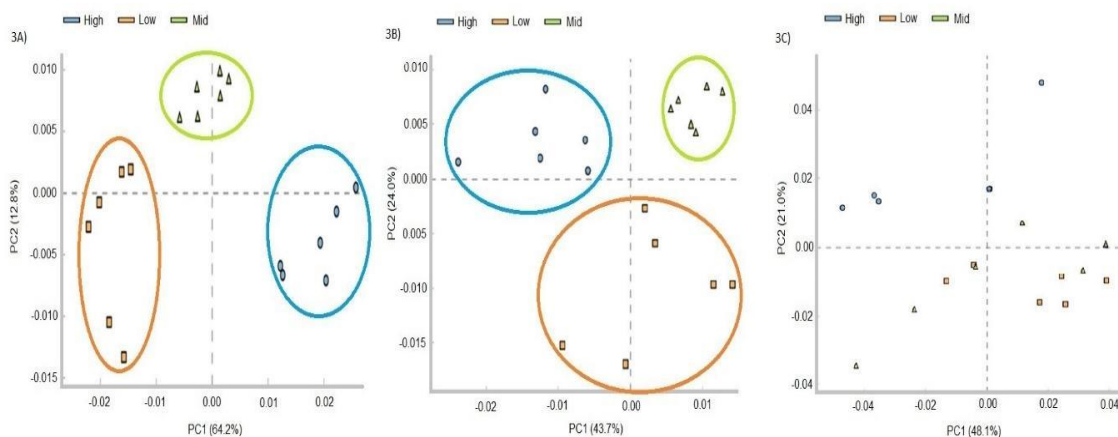


Tabla 3: Genomas detectados en NCBI con el gen de interés y géneros pronosticados con mayor abundancia (con gen de interés) provenientes de suelo rizosférico en tres salinidades contrastantes en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015). Entre paréntesis se muestran las abundancias relativas detectadas en el manglar.

Gen	# de genomas	Presente en # de géneros	Número de géneros con mayor abundancia
rfbB	3605	117	<i>Ilumatobacter</i> (11,8%), <i>Streptomyces</i> (9,9%) <i>Mycobacterium</i> (9,7%)
rfbA	3292	105	
cysD	2416	84	

Tabla 3: (Continuación).

Gen	Número de genomas	Presente en # de géneros	Número de géneros con mayor abundancia
asd	1913	14	<i>Streptomyces</i> (9,9%), <i>Mycobacterium</i> (9,7%), <i>Rhodococcus</i> (1,0)
INO1	35	4	
sat	667		
lysC	552	1	<i>Corynebacterium</i> (0,7%)
rffG	189		<i>Actinomadura</i> (1,2%)

2.3 Salinidad versus abundancia de ARG

Se identificaron 33 genes asociados a la resistencia de antibióticos (ARG); 16 con diferencias significativas según la salinidad (nj). Los genes más abundantes fueron *acrB*, *mexB*, *adeJ*, *smeE*, *mtrD*, *cmeB* (K18138), asociados a la resistencia a múltiples fármacos mediante activación de bombas de eflujo MexAB-OprM, con abundancias entre 29,3 (3A) y 43,4 lecturas (2B), seguidos por *mexF* (K18299), implicado en la multiresistencia mediante bomba de eflujo MexEF-OprN (2,66;2A - 5,20;3B); *vgb* (K18235). Su mecanismo de inactivación está asociado a la resistencia a los macrólidos (0,88;2A - 4,10;4B); *cusR*, *copR*, *silR* (K07665), que causa la represión de la porina OprD y, de esta manera, la resistencia a imipenem y *bpeF* (K18902), involucrado en la resistencia a múltiples fármacos mediante la bomba de eflujo BpeEF-OprC (0,88;2A - 3,56;4C) (fig. 4A, tab. 4).

Se detectaron seis mecanismos de resistencia asociados a la resistencia de diez compuestos antimicrobianos (fig. 4 B y C). El mecanismo de resistencia con mayor prevalencia incluyó bombas de eflujo (54%), asociadas al transporte de proteínas de resistencia de los transportadores MFS y ABC. Nueve de estas bombas presentaron

diferencias significativas en las abundancias. Estas bombas de eflujo se relacionaron con los siguientes genes: *tetV* y *cmr* (transportadores MFS de la familia DHA3), asociados a la resistencia a la tetraciclina y los macrólidos respectivamente; *tetA* (transportador MFS de la familia DHA1) está asociado al eflujo de la tetraciclina en un proceso dependiente de energía, que disminuye la acumulación del antibiótico en la célula. Los genes *oleC4* y *C5* hacen parte del sistema de transporte de oleandomicina y permeasas, y ofrecen resistencia a los macrólidos y la tetraciclina respectivamente; *bacA*, ofrece multirresistencia mediante la catálisis de la desfosforilación del difosfato de undecaprenil (UPP); *abcA* codifica para la proteína transportadora ABC y está asociada al eflujo de los betalactámicos; *mexK*, asociado a la bomba de eflujo MexJK-OprM y ofrece multirresistencia; y *tolC*, establece un canal de membrana exterior necesario para el funcionamiento de varios sistemas de eflujo involucrados en la exportación de antibióticos y otros compuestos tóxicos de las células.

Otros mecanismos de resistencia, como la alteración del *target* mediado por N-Acetiltransferasas y O-Fosfotransferasas (ocho genes - 23%), presentaron tres genes con abundancias estadísticamente diferentes. El gen *aaCA*, involucrado en la resistencia a los aminoglucósidos 4,6-disustituidos por la fosforilación de la región C-terminal de la quinasa codificada; y *van RAc* y *SAC*, que provocan la sustitución de los residuos terminales D-ala-D-ala por D-ala-D-lac, disminuyen la afinidad por la vancomicina. En menor proporción se detectaron otros mecanismos, que incluyen la inactivación por liasas y transferasas (dos genes - 6%); ambos genes con diferencias significativas en sus abundancias. Aquí se incluyen los genes *vgb* y *vat*, asociados a la resistencia de los macrólidos; seguido por la reducción de la permeabilidad por la represión de la porina OprD (dos genes: *cusS* y *cusR* - 6%), ambos con diferencias significativas y asociados a la resistencia a los betalactámicos e imipenem. Otros mecanismos fueron la protección ribosomal (*target protection*) y el B-lactamasas system (1 gen - 3% cada uno) (fig. 4C, tab. 4).

Figura 4: Perfiles de genes de resistencia a antibióticos (ARG) provenientes de suelos rizosféricos bajo salinidades contrastantes en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015). (a) Abundancia relativa de ARG según la salinidad. Salinidad: 4H, alta, 2M, media y 3L, baja, se muestran los 16 genes que mostraron diferencias estadísticas significativas (b) Mecanismos de resistencia asociados a los ARG identificados (c) Antibióticos resistidos por los ARG detectados en los sitios de muestreo.

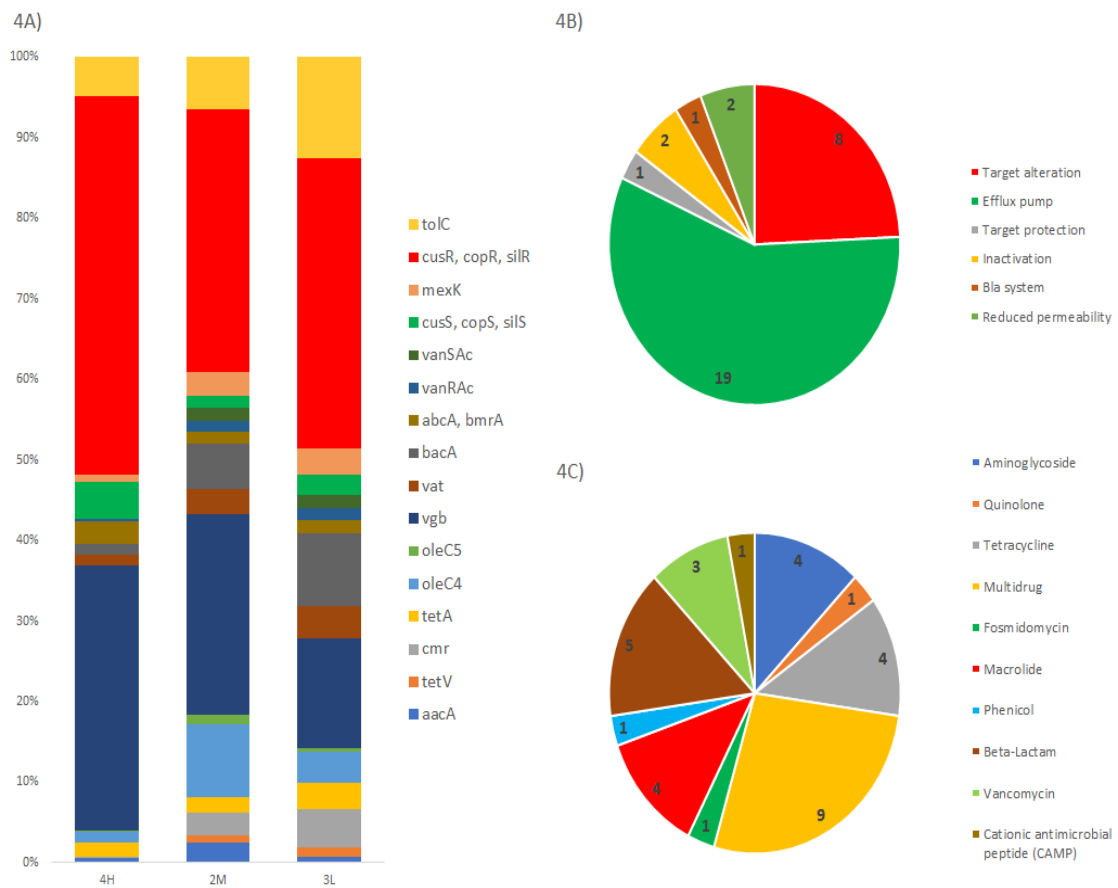


Tabla 4: ARG identificados, sus mecanismos y tipos de resistencia y abundancias en salinidades contrastantes en suelos rizosféricos en tres salinidades contrastantes en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015). Salinidades: alta: 4H, media: 2M, baja: 3L. Significancias: ***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$. Genes sin diferencias significativas según salinidad marcados con (-).

Código KEGG	Genes	Mecanismo y tipo de resistencia	Resistencia a	4H	2M	3L	% lecturas	p - valor
K18138	acrB, mexB, adeJ, smeE, mtrD, cmeB	Efflux pump MexAB-OprM	Multidrug	40,8	37,8	35,5	57,37	(-)
K18902	bpeF	Efflux pump BpeEF-OprC		4,92	5,25	5,10	7,68	
K18299	mexF	Efflux pump MexEF-OprM		4,35	4,35	3,60	6,18	
K07665	cusR, copR, silR	Reduced permeability. repression of porin OprD	Beta-Lactam imipenem	5,18	3,17	3,71	6,06	***
K18235	vgb	Inactivation	Macrolide	3,63	2,42	1,41	3,75	
K07660	phoP	Target alteration	Cationic antimicrobial peptide	1,84	1,49	1,52	2,44	
K03585	acrA, mexA, adel, smeD, mtrC, cmeA	Efflux pump MexAB-OprM	Multidrug	1,44	1,28	1,92	2,33	(-)
K03327	TC.MATE, SLC47A, norM, mdtK, dinF	Efflux pump (multidrug and Toxin Extrusion)		0,86	0,80	1,26	1,47	
K12340	tolC	Efflux pump AcrEF-TolC, MdtEF-TolC	Beta-Lactam Cationic antimicrobial peptide	0,54	0,62	1,28	1,23	**
K08223	fsr	Efflux pump (drug transporters)	Fosmidomycin	0,61	0,90	0,87	1,20	
K08167	qacA	Multidrug resistance, efflux pump QacA	Quinolone	0,76	0,90	0,61	1,14	(-)
K08641	vanX	Target alteration (D-Ala-D-Lac type)	Vanco-mycina	0,71	0,62	0,60	0,97	

Tabla 4: (Continuación).

Código KEGG	Genes	Mecanismo y tipo de resistencia	Resistencia a	4H	2M	3L	% lecturas	p - valor
K07552	bcr, tcaB	Efflux pump (Multidrug resistance protein Transporters)	Phenicol	0,53	0,58	0,54	0,83	(-)
K02471	bacA	Efflux pump (Antimicrobial peptide transport system ATP-binding/permease protein)	Multidrug	0,15	0,55	0,92	0,81	***
K18232	oleC4	Efflux pump (Transport system ATP-binding protein)	Macrolide	0,14	0,88	0,39	0,71	
K03395	aac3-l	Target alteration (N-Acetyltransferases)	Aminoglycoside	0,25	0,49	0,47	0,61	(-)
K18139	oprM, emhC, ttgC, cusC, adeK, smeF, mtrE, cmeC, gesC	Efflux pump MexJK-OprM, MexXY-OprM, MexAB-OprM	Multidrug	0,35	0,28	0,38	0,51	
K18220	tetM, tetO	Target protecting genes	Tetracyclina	0,20	0,45	0,30	0,48	
K07644	cusS, copS, silS	Reduced permeability, repression of porin OprD	Beta-Lactam, imipenem	0,52	0,14	0,26	0,46	**
K18234	vat	Inactivation	Macrolide	0,14	0,30	0,41	0,43	*
K18833	cmr	Efflux pump (MFS transporter, DHA3 family, multidrug efflux protein)		0,01	0,27	0,48	0,38	**
K00662	aacC	Target alteration (N-Acetyltransferases)	Aminoglycoside	0,18	0,32	0,25	0,38	(-)
K08151	tetA	Efflux pump (MFS transporter, DHA1 family, tetracycline resistance protein)	Tetracyclina	0,20	0,19	0,34	0,37	*
K18303	mexK	Efflux pump MexJK-OprM	Multidrug	0,09	0,30	0,33	0,36	**
K04343	strB	Target alteration (O-Phosphotransferases)	Aminoglycoside	0,21	0,31	0,13	0,33	(-)

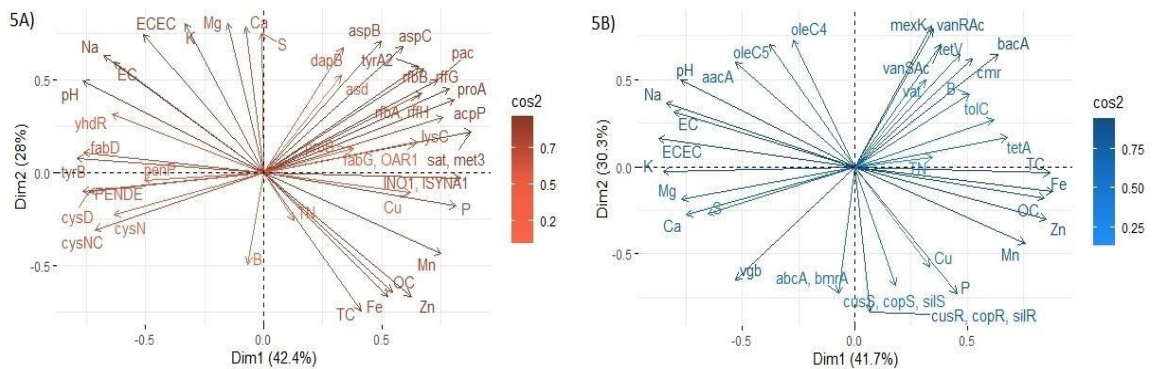
Tabla 4: (Continuación).

Código KEGG	Genes	Mecanismo y tipo de resistencia	Resistencia a	4H	2M	3L	% lecturas	p - valor
K18104	abcA, bmrA	Efflux pump (Multidrug resistance, efflux pump AbcA)	Beta-Lactam	0,32	0,14	0,18	0,32	*
K17836	penP	Bla system		0,11	0,19	0,26	0,28	(-)
K18901	bpeE	Efflux pump BpeEF-OprC	Multidrug	0,06	0,16	0,23	0,23	
K00663	aacA	Target alteration (N-Acetyltransferase)	Aminoglycoside	0,06	0,24	0,07	0,19	
K18351	vanSAc	Target alteration (D-Ala-D-Lac type)	Vancomiycine	0,00	0,15	0,16	0,16	**
K18352	vanRAc			0,02	0,14	0,15		
K18215	tetV	Efflux pump genes	Tetracyclina	0,01	0,09	0,13	0,12	*
K18233	oleC5	Efflux pump (transport system permease protein)		0,02	0,11	0,04	0,09	

2.4 Genes de biosíntesis y resistencia antimicrobiana *versus* variables fisicoquímicas

El PCA entre los genes de biosíntesis y resistencia antimicrobiana con diferencias estadísticas entre salinidades y los parámetros fisicoquímicos explicaron en 70,4 y 72,0%, respectivamente, la variación (fig. 5 A y B). Los genes de compuestos antimicrobianos cysN, yhdR, tyrB, penP, fabD, PENDE, cysD, cysNC, asd, dapB, aspB y aspC presentaron correlación positiva asociada a la salinidad (*i.e.* EC, Na, K y ECEC) o pH. Por el contrario, se correlacionaron negativamente con P, Cu, OC, TC, Mn, Fe y Zn. Lo opuesto ocurrió con rfbA/rffH, lysC, proA, proB, acpP, pac rfbB/rffG, tyrA2, fabG/OAR1, INO1/ISYNA1 y sat/met3, que correlacionaron positivamente con P, Cu, OC, TC, Mn, Fe y Zn, pero negativamente con pH, EC, Na, K y ECEC (fig. 6).

Figura 5: Análisis de componentes principales de genes identificados y parámetros fisicoquímicos medidos en el suelo rizosférico en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015). (a) genes de biosíntesis de compuestos antimicrobianos. (b) genes de resistencia antimicrobiana.



Los genes asociados con la resistencia a antibióticos (*cusS/copS/silS* y *cusR/copR/silR*) presentaron correlación positiva estrecha con Cu, P y Mn, pero negativa con pH, EC y Na; *oleC5*, *aacA* y *oleC4* se correlacionaron positivamente con ECEC, pH, EC y Na, pero negativamente con Zn, Fe, Mn, Cu y P; *tetA* y *tolC* revelaron correlación positiva con Cu, OC, TC, Mn, Fe y ZN, pero negativa con K, ECEC, S, Ca, Mg, Na, pH y EC. Los genes *cmr*, *vat*, *tetV*, *bacA*, *vanSAc* y *vanRAc* estuvieron correlacionados positivamente con OC, TC y Fe, pero negativamente con K, ECEC, S, Ca, Mg, pH, EC y Na (fig. 7).

Figura 6: Matriz de correlación de Spearman de los parámetros fisicoquímicos y los genes de biosíntesis de compuestos antimicrobianos identificados en el suelo rizosférico en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015). (ECEC: capacidad de intercambio catiónico efectivo; CE: conductividad eléctrica). El color representa una correlación positiva (azul) o negativa (rojo), y el tamaño de los puntos la fuerza de la correlación.

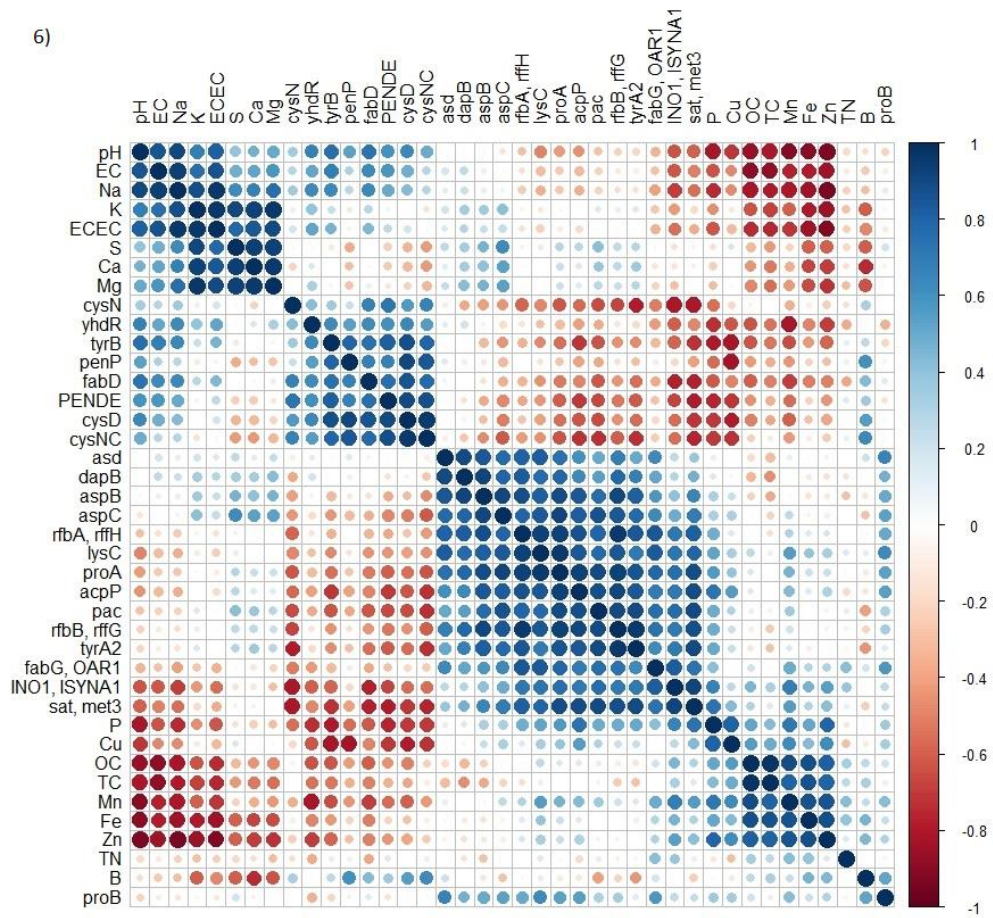
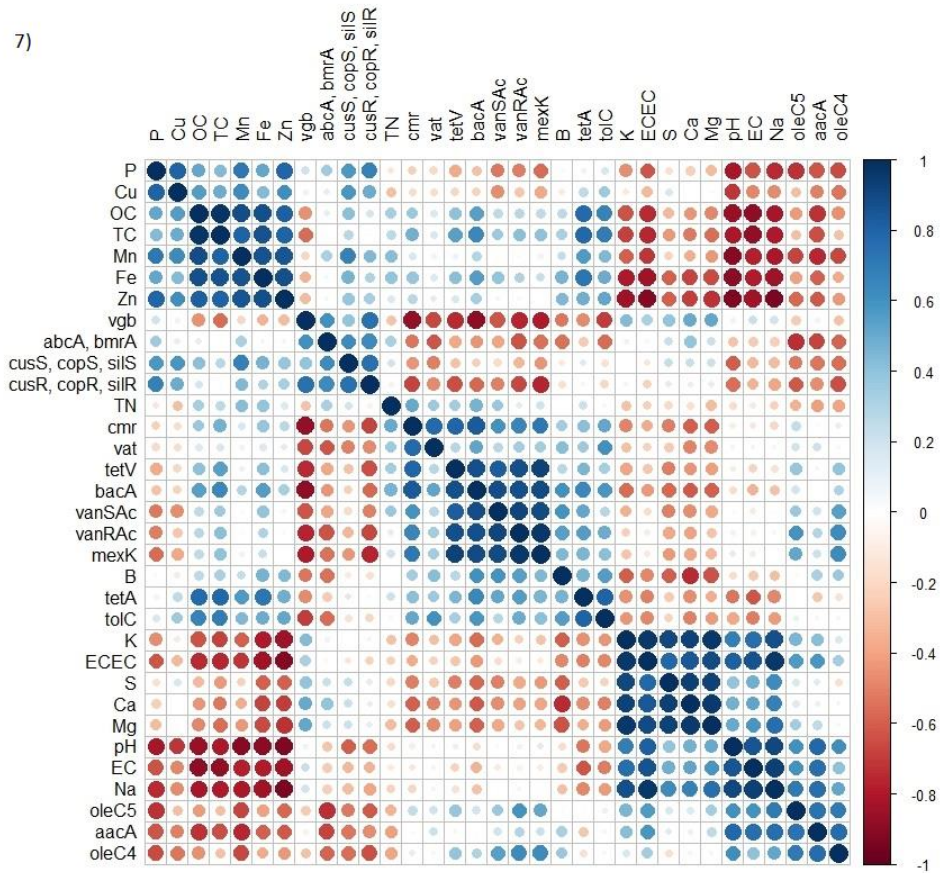


Figura 7: Matriz de correlación de Spearman de los parámetros fisicoquímicos y los ARG identificados en el suelo rizosférico en la desembocadura del río Ranchería en la Guajira, Colombia (noviembre de 2015). (ECEC: capacidad de intercambio catiónico efectivo; CE: conductividad eléctrica). El color representa una correlación positiva (azul) o negativa (roja), y el tamaño de los puntos la fuerza de la correlación.



3. Discusión

La secuenciación de escopeta del metagenoma completo de un manglar semiárido en el río Ranchería mostró que la salinidad es uno de los factores más influyentes sobre la estructura y composición de las actinobacterias, y la abundancia de genes asociados a síntesis o resistencia de compuestos antimicrobianos. Otros factores fisicoquímicos como pH y los iones de Cu, Ca, Mg, Mn, Fe, P y S (fig. 6 y 7) contribuyeron a las diferencias observadas. En general, a medida que la salinidad aumentaba, las abundancias de filos bacterianos disminuían. Como se esperaba, Proteobacteria fue el filo dominante en las tres zonas de muestreo, pues suele ser el más abundante en comunidades aisladas de suelos (Spain et al., 2009). Sin embargo, su abundancia relativa disminuyó 2,5 veces desde la salinidad baja (5,614 recuentos) hasta la alta (2,213 recuentos; fig. 2B, tab. S2). Actinobacteria fue el segundo filo más abundante; su valor relativo en el suelo disminuyó también notablemente conforme la salinidad aumentó, pero sin un efecto perceptible en la salinidad intermedia. Otros grupos con abundancias importantes fueron bacteroidetes, planctomycetes, firmicutos y chloroflexi, y también disminuyeron inversamente a la salinidad. Jiang et al. (2010) detectaron miembros actinobacterianos en una amplia gama de salinidades (desde agua dulce hasta saturación de NaCl) y sugirieron que la salinidad y otras variables relacionadas influyen significativamente en la distribución de tales comunidades.

Torres et al. (2019) encontró que firmicutos y chloroflexi se enriquecen en suelos contaminados, por lo que su abundancia puede estar más favorecida por este factor que por la salinidad. Los bacteroidetes son patógenos clínicos asociados a infecciones anaeróbicas (Wexel, 2007) y su abundancia podría estar relacionada con la interferencia humana. En un artículo en proceso el grupo de investigadores compara las estructuras de las comunidades microbianas y su producción de compuestos bioactivos entre un manglar contaminado y uno prístino, con la intención de hallar grupos eventualmente favorecidos por la contaminación con aguas residuales. Estos filos han sido dominantes en

ecosistemas salinos (Paul et al., 2016; Haldar y Nazareth, 2018; Zhao et al., 2019; Chakraborty et al., 2020); sin embargo, los resultados sugieren que la salinidad puede afectar negativamente sus abundancias relativas.

Las proteobacterias suelen ser el filo más abundante en el medio ambiente, debido a su gran diversidad morfológica, fisiológica y metabólica (Kersters et al., 2006). No obstante, este estudio se centró en las actinobacterias, pues no solo participan de procesos como el reciclaje de materiales, importantes en una gran cantidad de hábitats, también son las responsables de la producción de casi la mitad de los metabolitos secundarios descritos (Berdy, 2005; Ul Hassan et al., 2017; Escobar et al., 2020), incluyendo > 10.000 antibióticos (Kekuda et al., 2010). Estas actinobacterias se enfrentan a un ambiente dinámico de alta tensión en el manglar del río Ranchería debido al deterioro significativo por pérdida de hábitat, eutrofización y contaminación orgánica e inorgánica, y unas condiciones de hipoxia y salinidades contrastantes (Vélez y Polanía, 2007). Los resultados de esta investigación validan la hipótesis de que este deterioro y las condiciones contrastantes de salinidad pueden favorecer que las actinobacterias produzcan compuestos antimicrobianos como estrategia de supervivencia.

En general, las actinobacterias fueron más abundantes en el suelo de salinidad intermedia, lo que puede deberse a la tolerancia moderada ofrecida por la formación de esporas, zoosporas o propágulos especializados como respuesta a la desecación, el calor, la salinidad y las presiones hidrostáticas elevadas (Goodfellow y Williams, 1983). El orden más abundante fue actinomicetales y cuatro (Mycobacteriaceae, Pseudonocardia-ceae, Streptomycetaceae y Nocardioideaceae) de las seis familias más destacadas pertenecen a este grupo. Posiblemente esta dominancia sea auspiciada por los periodos de inundación, ya que una gran parte de los actinomicetales pueden ser tanto aerobios como anaerobios facultativos (Goodfellow y Williams, 1983). Respecto a la abundancia de géneros, correspondieron a las familias más abundantes. Se detectaron géneros productores de compuestos antimicrobianos, como *Actinomadura*, *Acinoplanes*, *Amycolatopsis*, *Marinispora*, *Micromonospora*, *Nocardioopsis*, *Saccharopolyspora*, *Salinispora*, *Streptomyces* y *Verrucosispora* (Thatoi et al., 2013). Particularmente, *Streptomyces* presentó mayor abundancia en el suelo de salinidad media y ha sido descrito como fuente de varios medicamentos, como la vancomicina (Kemung et al., 2018). Si bien, varios de

estos géneros no tuvieron una significancia estadística ($p > 0,05$, tab. S5), fueron más abundantes en la salinidad media, por lo que no descartamos que sea un factor influyente sobre la estructura diferencial de las comunidades de actinobacterias.

La salinidad influyó sobre las abundancias de genes asociados con la síntesis de compuestos antimicrobianos. Se detectaron 11 vías metabólicas asociadas con dicha síntesis (tab. 1); las nueve de ellas más abundantes fueron influenciadas positivamente por la salinidad alta. Esto concuerda con Huang et al. (2011), que se refiere al efecto positivo en microorganismos de ecosistemas marinos sobre el crecimiento y la producción de metabolitos secundarios. También, como ocurrió en esta investigación y en Andreote et al. (2012); Fraser et al. (2018) y Rietz y Haynes (2003), el aumento en la salinidad ha sido correlacionado con el de grupos taxonómicos bacterianos productores de compuestos antimicrobianos y metabolitos secundarios.

La estreptomycinina es un antibiótico del grupo de los aminoglucósidos que inhibe la síntesis proteica de la subunidad 30s del ribosoma y su vía metabólica de síntesis fue la más abundante (29,5%); representada principalmente por los genes *rfbB/rffG*. Estos genes también están asociados a la síntesis de la vancomicina (11,61%), *INO1/ISYNA1* (5,53%) y *rfbA/rffH* (4,61%) y presentaron abundancias significativas en el suelo de salinidad alta aunque, curiosamente, una correlación negativa con Na y CE (tab. 2). Los genes *rfbB* y *rfbA* fueron predichos en géneros de actinobacterias con altas abundancias como *Ilumatobacter* (11,9 % de abundancia relativa) y *Streptomyces* (1,0%). *Ilumatobacter* ha sido aislada de sedimentos marinos con valores entre 0 y 5% de NaCl (Matsumoto et al., 2009), frecuente en costas marinas bajo influencia humana contrastante (Duran et al., 2015), asociado a la resistencia a sulfonamida (Huang et al., 2017) y simbiote de cangrejos marinos (Zhang et al., 2016). No se ha registrado aún que produzca sustancias antimicrobianas y, sin embargo, podría constituir una nueva fuente de antibióticos.

Los genes *rfbA* y *rfbB* también hacen parte de la vía biosintética bacteriana de la ramosa, un monosacárido integral del lipopolisacárido, a su vez un componente mayoritario de la membrana externa de bacterias gram-negativas (Eidels y Osborn, 1971). La producción de ramosa por parte de estas bacterias, pertenecientes a un sinnúmero de grupos, podría explicar parte de su abundancia. Por otra parte, *INO1/ISYNA1* hacen parte del metabolismo del inositol fosfato, implicado en la tolerancia a la salinidad (Nelson et al.,

1998). Seguidamente a la síntesis de estreptomicina, la vía metabólica más abundante fue la de monobactámicos (27,9%), grupo que inhibe la formación de la pared celular en bacterias gram-negativas, que ha sido aislado naturalmente de *Chromobacterium* spp (Wells et al., 1982). Este trabajo halló cinco especies con bajos recuentos: *C. haemolyticum*, *C. piscinae*, *C. subtsugae*, *C. vaccinii* y *C. violaceum* (esta última produce aztreonam). Los genes más representativos de la biosíntesis de los monobactámicos fueron *sat/met3* (K00958), intermediarios en el metabolismo de los aminoácidos glicina, serina y treonina e involucrados en el metabolismo del azufre y registrados por Cabral et al. (2016) en ambientes hipersalinos (concentraciones > 20% de NaCl). Los resultados sugieren que su abundancia está influenciada positivamente por la salinidad alta. No obstante, los análisis de correlación y de componentes principales apuntan a una correlación negativa con los parámetros asociados a la salinidad como EC y Na, pero positiva con Zn, Mn, Fe, Cu, P y OC. Esta aparente contradicción podría resolverse parcialmente porque la abundancia de *sat/met3* podría estar relacionada con la absorción de algunos micronutrientes, como Fe y Zn y la reducción de sulfato a sulfito por adeniltransferasas (Sat) (Pinnell y Turner, 2019). Estos genes fueron abundantes en el suelo y exhibieron una correlación positiva en el PCA (Figura 6), más que por la salinidad elevada, lo que, a su vez, podría interpretarse como una respuesta adaptativa.

Campbell et al. (2020) encontró que los genes involucrados en el metabolismo del azufre se transcriben abundantemente dentro de los metatranscriptomas de tapetes microbianos hipersalinos; observaron que su abundancia responde a condiciones de bajos nutrientes para facilitar la absorción de ácidos grasos, P, Fe y N del medio ambiente, así como con mecanismos de protección contra condiciones de salinidad elevada. Lo contrario ocurrió con *cysD*, que estuvo influenciado principalmente por la salinidad baja. Las vías de síntesis de antibióticos de importancia farmacológica, como la penicilina, cefalosporina, kanamicina, gentamicina y tetraciclina, fueron detectadas en bajas concentraciones.

Los genes de biosíntesis de compuestos antimicrobianos más abundantes fueron *rfbB* (11,6%) y *rfbA* (4,6%), que han sido registrados en el genoma de > tres mil géneros bacterianos del NCBI, incluyendo 117 y 105 en el delta del Ranchería, respectivamente, entre ellos *Ilumatobacter*, *Streptomyces* y *Mycobacterium* (tab. 3). El gen *rfbB* participa en la biosíntesis de la estreptomicina y la vancomicina, codifica dTDP-D-glucosa 4,6-

deshidratasa (E.C. 4.2.1.46), que cataliza la conversión de dTDP-D-glucosa en dTDP-4-ceto-6-desoxi-D-glucosa. El gen *rfbA* interviene en la biosíntesis de la estreptomicina (tab. 2) y es responsable de la conversión de glucosa-1-fosfato en dTDP-D-glucosa. Estas enzimas han sido purificadas en varias bacterias productoras de antibióticos (Romana et al., 1991). El gen *cysD* presentó la cuarta mayor abundancia de lecturas (3,9%), codifica una enzima que cataliza la primera reacción en la biosíntesis de cisteína (a partir de sulfato en la biosíntesis de monobactámicos; Malo y Loughlin, 1990) y fue hallado en el genoma de 84 géneros de este estudio. En general, los genes de mayor abundancia fueron hallados en los géneros más comunes, en parte por su participación en otras funciones del metabolismo secundario bacteriano.

Genes asociados a la resistencia a compuestos antimicrobianos fueron menos abundantes en la desembocadura del río Ranchería que los asociados a su síntesis, aunque Chakraborty et al. (2020) reconocen correlaciones evolutivas y de origen entre ellas y el ingreso de aguas residuales no tratadas que favorecen los niveles elevados de ARG en el medio ambiente (Karkman et al., 2018). Este trabajo halló 33 anotaciones KEGG, 16 de éstas influenciadas significativamente por la salinidad (tab. 4). El mecanismo prevalente fue el de las bombas de eflujo de genes. Nueve de las 19 anotaciones asociadas a este mecanismo presentaron significancia estadística (*tetV*, *cmr*, *tetA*, *oleC4*, *oleC5*, *bacA*, *abcA/bmrA*, *mexK*, *tolC*). Este mecanismo está involucrado en la multirresistencia, principalmente, a tetraciclina, macrólidos y betalactámicos. Capdeville et al. (2019) menciona que estas bombas han sido detectadas en manglares y otros ecosistemas marinos.

La alteración del blanco (*'target alteration'*) fue otro mecanismo prominente; los genes *vanRAc* (K18352) y *vanSAc* (K18351) fueron los más abundantes y están asociados a la resistencia a la vancomicina. La vancomicina bloquea el entrecruzamiento entre los intermedios de peptidoglicano y se une a los extremos D-Ala-D-Ala de los precursores de la pared celular bacteriana. Los genes *vanR* y *vanS* codifican un sistema de transducción de señales de dos componentes que median la inducción transcripcional de los genes ortólogos codificadores de enzimas, y reprograman la biosíntesis de peptidoglucanos, de manera que los precursores de la pared celular terminan en D-Ala-D-Lac en lugar de D-Ala-D-Ala (Hong et al., 2004).

Los genes *cusR*, *copR*, *silR* (K07665), que reducen la permeabilidad de la membrana mediante represión de la porina *OprD* y, por tanto, resisten los betalactámicos e imipenem, representaron las mayores abundancias, con diferencias significativas en la salinidad alta. Estos genes han sido los más abundantes donde hay aguas residuales (Fan et al., 2018), hacen parte de sistemas que regulan la exportación de cobre (en respuesta a su disponibilidad y la del oxígeno; e.g. Outten et al., 2001) y confirman su correlación positiva con Cu (*i.e.* análisis de correlación y el PCA; fig. 5 y 7). El gen *vgb* (K18235) fue el segundo más representativo, el más abundante en salinidad alta, codifica una hidrolasa que inactiva los componentes B de la familia de la virginiamicina y causa su resistencia (Allignet et al., 1988). Su et al. (2011) sugiere que la expresión de genes de resistencia antimicrobiana, como *vgb*, podría mejorar la tolerancia a tensores ambientales (*v.gr.* anegamiento). El gen *tolC* (K12340) fue el tercero más prevalente y, a diferencia de los anteriores, su mayor abundancia se presentó en salinidad baja.

Este gen ofrece nodulación de resistencia a betalactámicos y péptidos catiónicos antimicrobianos (CAMP) mediante bombas de eflujo en la membrana externa (Bleuel et al., 2005). Esto sugiere que los niveles medidos en la desembocadura del río Ranchería responden a tensión ambiental ocasionada, a su vez, por presencia de disolventes orgánicos (Aono et al., 1998). El gen *tolC* se correlacionó negativamente con CE y Na relacionados, a su vez, directamente con la salinidad (fig. 7).

4. Conclusiones

- La salinidad es uno de los principales factores reguladores, en concomitancia con otras variables medioambientales, de la abundancia de los genes asociados a la síntesis de compuestos antimicrobianos y, en menor medida, a los ARG en la comunidad microbiana del manglar de la desembocadura del río Ranchería.
- Las principales rutas asociadas a la producción de sustancias antimicrobianas fueron la de la estreptomicina (rfbB, rffG, INO1, ISYNA1, rfbA, rffH y pgm), la de los monobactámicos (sat, met3, asd, lysC, cysD y dapA), la de carbapenem (proA y proB) y la de la novobiocina (aspB y hisC).
- La abundancia de nueve rutas y la mayoría de los genes identificados como integrantes de la síntesis de compuestos antimicrobianos estuvieron mediados por la salinidad. Esta diversidad de rutas y genes ofrece un escenario potencial para buscar compuestos bioactivos de utilidad farmacéutica. Así mismo, representa una base para facilitar la comprensión de los mecanismos de resistencia antimicrobiana en manglares áridos y sometidos a contaminación urbana de la Guajira.
- Los genes asociados a la resistencia a compuestos antimicrobianos fueron menos abundantes en el suelo del manglar de la desembocadura del río Ranchería que aquellos involucrados con su síntesis.
- Predominaron las bombas de eflujo y la resistencia a multidroga, beta-lactámicos, imipenem y macrólidos, con diversos genes influenciados por salinidad (*i.e.*, aacA, oleC4, oleC5, vgb, acrB/mexB/adeJ/smeE/mtrD/cmeB, bpeF, mexF). Por lo tanto, la salinidad es un factor abiótico clave en la estructura de las comunidades microbianas en los suelos del manglar de la desembocadura del río Ranchería.
- No se puede descartar que la diversidad metabólica encontrada en el manglar de la desembocadura del río Ranchería pueda estar asociada con variables no evaluadas en este trabajo. En particular se recomienda a futuros investigadores revisar, entre otras, las condiciones fluctuantes de oxígeno, el anegamiento y la

presencia de compuestos xenobióticos entre los componentes de las aguas residuales que regularmente llegan a este ecosistema.

5. Bibliografía

- Allignet, J., Loncle, V., Mazodier, P., & El Solh, N. (1988). Nucleotide sequence of a staphylococcal plasmid gene, vgb, encoding a hydrolase inactivating the B components of virginiamycin-like antibiotics. *Plasmid*, 20(3), 271-275.
- Alongi, D. M. (1988). Bacterial productivity and microbial biomass in tropical mangrove sediments. *Microbial Ecology*, 15, 59–79.
- Alongi, D. M. (2002). Present state and future of the world's mangrove forests. *Environmental conservation*, 29(3), 331-349.
- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., & Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic acids research*, 25(17), 3389-3402.
- Andreote, F. D., Jiménez, D. J., Chaves, D., Dias, A. C. F., Luvizotto, D. M., Dini-Andreote, F.,... de Melo, I. S. (2012). The microbiome of Brazilian mangrove sediments as revealed by metagenomics. *PLoS One*, 7(6), e38600.
- Andrews, S. (2015). FastQC. A quality control tool for high throughput sequence data. Babraham Bioinform.
- Aono, R., Tsukagoshi, N., & Yamamoto, M. (1998). Involvement of outer membrane protein TolC, a possible member of the mar-sox regulon, in maintenance and improvement of organic solvent tolerance of Escherichia coli K-12. *Journal of Bacteriology*, 180(4), 938-944.
- Arumugam, M., Mitra, A., Pramanik, A., Saha, M., Gachhui, R., & Mukherjee, J. (2011). *Streptomyces sundarbansensis* sp. nov., an actinomycete that produces 2-allyloxyphenol. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 161, 2664–9.
- Atwood, T. B., Connolly, R. M., Almahasheer, H., Carnell, P. E., Duarte, C. M., Lewis, C. J. E.,...Serrano, O. (2017). Global patterns in mangrove soil carbon stocks and losses. *Nature Climate Change*, 7(7), 523-528.
- Basak, P., Majumder, N. S., Nag, S., Bhattacharyya, A., Roy, D., Chakraborty, A.,...Ghosh, A. (2015). Spatiotemporal analysis of bacterial diversity in sediments of Sundarbans using parallel 16S rRNA gene tag sequencing. *Microbial ecology*, 69(3), 500-511.
- Bayen, S. (2012). Occurrence, bioavailability and toxic effects of trace metals and organic contaminants in mangrove ecosystems: a review. *Environment international*, 48, 84-101.
- Ben, Y., Fu, C., Hu, M., Liu, L., Wong, M. H., & Zheng, C. (2019). Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: a review. *Environmental research*, 169, 483-493.
- Berdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 58(1),1-26.
- Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1), 42-51.

-
- Bleuel, C., Große, C., Taudte, N., Scherer, J., Wesenberg, D., Krauß, G. J.,...Grass, G. (2005). TolC is involved in enterobactin efflux across the outer membrane of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 187(19), 6701-6707.
 - Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30, 2114e2120.
 - Boudemagh, A., Kitouni, M., Boughachiche, F., Hamdiken, H., Oulmi, L., & Reghiooua, S. (2005). Isolation and molecular identification of actinomycetes microflora, of some Saharian soils of south east Algeria (Biskra, EL-Oued and Ourgla) study of antifungal activity of isolated strains. *Journal de Mycologie Médicale*, 15, 39–44.
 - Bouillon, S., Borges, A. V., Castañeda-Moya, E., Diele, K., Dittmar, T., Duke, N. C.,...Rivera-Monroy, V. H. (2008). Mangrove production and carbon sinks: a revision of global budget estimates. *Global Biogeochemical Cycles*, 22(2).
 - Bouyoucos, G. J. (1962). Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils 1. *Agronomy Journal*, 54(5), 464-465.
 - Bray, R. H., & Kurtz, L. T. (1945). Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil science*, 59(1), 39-46.
 - Bremner, J. M., & Keeney, D. R. (1965). Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. *Analytica Chimica Acta*, 32, 485-495.
 - Bryan-Brown, D. N., Connolly, R. M., Richards, D. R., Adame, F., Friess, D. A., & Brown, C. J. (2020). Global trends in mangrove forest fragmentation. *Scientific Reports*, 10(1), 1-8.
 - Buchfink, B., Xie, C., & Huson, D. H. (2015). Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. *Nature Methods*, 12(1), 59-60.
 - Cabral, L., Júnior, G. V. L., de Sousa, S. T. P., Dias, A. C. F., Cadete, L. L., Andreote, F. D.,...de Oliveira, V. M. (2016). Anthropogenic impact on mangrove sediments triggers differential responses in the heavy metals and antibiotic resistomes of microbial communities. *Environmental Pollution*, 216, 460-469.
 - Campbell, M. A., Grice, K., Visscher, P. T., Morris, T., Wong, H. L., White III, R. A., ... & Coolen, M. J. (2020). Functional gene expression in Shark Bay hypersaline microbial mats: Adaptive Responses. *Frontiers in microbiology*, 11, 2741.
 - Capdeville, C., Pommier, T., Gervais, J., Fromard, F., Rols, J. L., & Leflaive, J. (2019). Mangrove facies drive resistance and resilience of sediment microbes exposed to anthropic disturbance. *Frontiers in Microbiology*, 9, 3337.
 - Chakraborty, J., Sapkale, V., Shah, M., Rajput, V., Mehetre, G., Agawane, S., & Dharme, M. (2020). Metagenome sequencing to unveil microbial community composition and prevalence of antibiotic and metal resistance genes in hypersaline and hyperalkaline Lonar Lake, India. *Ecological Indicators*, 110, 105827.
 - Chen, Q., Zhao, Q., Li, J., Jian, S., & Ren, H. (2016). Mangrove succession enriches the sediment microbial community in South China. *Scientific Reports*, 6, 27468.
 - Chong, J., Liu, P., Zhou, G., & Xia, J. (2020). Using MicrobiomeAnalyst for comprehensive statistical, functional, and meta-analysis of microbiome data. *Nature Protocols*, 15(3), 799-821.
 - Dalisay, D. S., Williams, D. E., Wang, X. L., Centko, R., Chen, J., & Andersen, R. J. (2013). Marine sediment derived *Streptomyces* bacteria from British Columbia, Canada are a promising microbiota resource for the discovery of antimicrobial natural products. *PLoS One*, 8e77078.

- De Tayrac, M., Lê, S., Aubry, M., Mosser, J., & Husson, F. (2009). Simultaneous analysis of distinct Omics data sets with integration of biological knowledge: Multiple Factor Analysis approach. *BMC genomics*, 10(1), 32.
- Dos Santos, H. F., Cury, J. C., Do Carmo, F. L., Dos Santos, A. L., Tiedje, J., Van Elsas, J. D.,...Peixoto, R. S. (2011). Mangrove bacterial diversity and the impact of oil contamination revealed by pyrosequencing: bacterial proxies for oil pollution. *PLoS One*, 6(3), e16943.
- Duke, N. C., Meynecke, J. O., Dittmann, S., Ellison, A. M., Anger, K., Berger, U.,...Koedam, N. (2007). A world without mangroves? *Science*, 317(5834), 41-42.
- Duran, R., Bielen, A., Paradžik, T., Gassie, C., Pustijanac, E., Cagnon, C., ... & Vujaklija, D. (2015). Exploring Actinobacteria assemblages in coastal marine sediments under contrasted Human influences in the West Istria Sea, Croatia. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(20), 15215-15229.
- Eidels, L., & Osborn, M.J. (1971) Lipopolysaccharide and aldoheptose biosynthesis in transketolase mutants of *Salmonella typhimurium*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(8), 1673-1677.
- Escobar, N., Arenas, N. E., & Marquez, S. M. (2020). Characterization of microbial populations associated with different organic fertilizers. *International Journal of Recycling Organic Waste in Agriculture*, 9(2), 171-182.
- Fan, X. Y., Gao, J. F., Pan, K. L., Li, D. C., Dai, H. H., & Li, X. (2018). Functional genera, potential pathogens and predicted antibiotic resistance genes in 16 full-scale wastewater treatment plants treating different types of wastewater. *Bioresour. Technol.*, 268, 97-106.
- Ferreira, T. O., Otero, X. L., de Souza Junior, V. S., Vidal-Torrado, P., Macías, F., & Firme, L. P. (2010). Spatial patterns of soil attributes and components in a mangrove system in Southeast Brazil (São Paulo). *Journal of Soils and Sediments*, 10(6), 995–1006.
- Fraser, M. W., Gleeson, D. B., Grierson, P. F., Laverock, B., Kendrick, G. A. (2018). Metagenomic evidence of microbial community responsiveness to phosphorus and salinity gradients in seagrass sediments. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1703.
- Ghaderpour, A., Ho, W. S., Chew, L.-L., Bong, C. W., Chong, V. C., Thong, K.-L., & Chai, L. (2015). Diverse and abundant multi-drug resistant *E. coli* in Matang mangrove estuaries, Malaysia. *Frontiers in Microbiology*, 6, 977.
- Goodfellow, M., & Williams, S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 37(1), 189-216.
- Haldar, S., & Nazareth, S.W. (2018). Taxonomic diversity of bacteria from mangrove sediments of Goa: metagenomic and functional analysis. *3 Biotech*, 8(10), 436.
- Hochard, J. P., Hamilton, S., & Barbier, E.B. (2019). Mangroves shelter coastal economic activity from cyclones. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116, 12232–12237.
- Hong, H. J., Hutchings, M. I., Neu, J. M., Wright, G. D., Paget, M. S., & Buttner, M. J. (2004). Characterization of an inducible vancomycin resistance system in *Streptomyces coelicolor* reveals a novel gene (vanK) required for drug resistance. *Molecular Microbiology*, 52(4), 1107-1121.
- Horwitz, W. (2010). Official methods of analysis of AOAC International. Volume I, agricultural chemicals, contaminants, drugs/edited by William Horwitz. Gaithersburg (Maryland): AOAC International, 1997.

-
- Huang, H., Zheng, X., Chen, Y., Liu, H., Wan, R., & Su, Y. (2017). Alkaline fermentation of waste sludge causes a significant reduction of antibiotic resistance genes in anaerobic reactors. *Science of the Total Environment*, 580, 380-387.
 - Huang, J., Lu, C., Qian, X., Huang, Y., Zheng, Z., & Shen, Y. (2011). Effect of salinity on the growth, biological activity and secondary metabolites of some marine fungi. *Acta Oceanologica Sinica*, 30(3), 118.
 - Huson, D. H., & Weber, N. (2013). Microbial community analysis using MEGAN. In *Methods in enzymology* (Vol. 531, pp. 465-485). Academic Press.
 - IDEAM, 2015. Atlas Climatológico de Colombia. Bogotá. D.C, 2015. <http://atlas.ideam.gov.co/visorAtlasVientos.html>. Consulted in. (Accessed August 2018).
 - Imchen, M., Kumavath, R., Barh, D., Vaz, A., Góes-Neto, A., Tiwari, S.,...Azevedo, V. (2018). Comparative mangrove metagenome reveals global prevalence of heavy metals and antibiotic resistome across different ecosystems. *Scientific Reports*, 8(1), 1-15.
 - Jalal, K. C. A., UT, N. F., Mardiana, M. A., Shahbudin, S., & Omar, M. N. (2010). Antibiotic resistance microbes in tropical mangrove sediments in east coast peninsular, Malaysia. *African Journal of Microbiology Research*, 4(8), 640-645.
 - Jiang, H., Huang, Q., Deng, S., Dong, H., & Yu, B. (2010). Planktonic actinobacterial diversity along a salinity gradient of a river and five lakes on the Tibetan Plateau. *Extremophiles*, 14(4), 367-376.
 - Karkman, A., Pärnänen, K., & Larsson, D.J., (2018). Fecal pollution explains antibiotic resistance gene abundances in anthropogenically impacted environments. *bioRxiv*, 341487
 - Kekuda, P., Shobha, K., & Onkarappa, R. (2010). Fascinating diversity and potent biological activities of Actinomycete metabolites. *Journal of Pharmacy Research*, 3(2), 250-256.
 - Kemung, H. M., Tan, L. T. H., Khan, T. M., Chan, K. G., Pusparajah, P., Goh, B. H., & Lee, L. H. (2018). Streptomyces as a prominent resource of future anti-MRSA drugs. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2221.
 - Kersters, K., De Vos, P., Gillis, M., Swings, J., Vandamme, P., & Stackebrandt, E. (2006). Introduction to the Proteobacteria. In *The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria* (Vol. 5, pp. 3-37). Springer.
 - Khan, A., & Rao, T.S. (2019). Molecular evolution of xenobiotic degrading genes and mobile DNA elements in soil bacteria. In *Microbial Diversity in the Genomic Era* (pp. 657-678). Academic Press.
 - Koch, E. W., Barbier, E. B., Silliman, B. R., Reed, D. J., Perillo, G. M., Hacker, S. D.,...Halpern, B. S. (2009). Non-linearity in ecosystem services: temporal and spatial variability in coastal protection. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 7(1), 29-37.
 - Krishnan, K. P., & Bharathi, P.L. (2009). Organic carbon and iron modulate nitrification rates in mangrove swamps of Goa, south west coast of India. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 84(3), 419-426.
 - Law, J. W. F., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N. S., Wong, S. H., Goh, B. H., & Lee, L. H. (2019). A review on mangrove actinobacterial diversity: the roles of Streptomyces and novel species discovery. *Progress In Microbes & Molecular Biology*, 2(1).
 - Lewis, M., Pryor, R., & Wilking, L. (2011). Fate and effects of anthropogenic chemicals in mangrove ecosystems: a review. *Environmental Pollution*, 159(10), 2328-2346.

- Malo, M. S., & Loughlin, R. E. (1990). Promoter elements and regulation of expression of the *cysD* gene of *Escherichia coli* K-12. *Gene*, 87(1), 127-131.
- Mann, J. (2001). Natural products as immunosuppressive agents. *Natural Product Reports*, 18, 417-30.
- Matsumoto A, Kasai H, Matsuo Y, Omura S, Shizuri Y, Takahashi Y (2009) *Ilumatobacter fluminis* gen. nov., sp. nov., a novel *Actinobacterium* isolated from the sediment of an estuary. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 55, 201-205.
- Mitsch, W. J., Gosselink, J. G., Zhang, L., & Anderson, C. J. (2009). *Wetland Ecosystems*. John Wiley & Sons, Ltd, New Jersey.
- Mullis, M. M., Rambo, I. M., Baker, B. J., & Reese, B. K. (2019). Diversity, ecology, and prevalence of antimicrobials in nature. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2518.
- Muñoz-García, A., Mestanza, O., Isaza, J. P., Figueroa-Galvis, I., & Vanegas, J. (2019). Influence of salinity on the degradation of xenobiotic compounds in rhizospheric mangrove soil. *Environmental Pollution*, 249, 750-757.
- Nagelkerken, I. S. J. M., Blaber, S. J. M., Bouillon, S., Green, P., Haywood, M., Kirton, L. G., Somerfield, P. J. (2008). The habitat function of mangroves for terrestrial and marine fauna: a review. *Aquatic Botany*, 89(2), 155-185.
- Nathan, V. K., Vijayan, J., Ammini, & P. (2020). Comparison of bacterial diversity from two mangrove ecosystems from India through metagenomic sequencing. *Regional Studies in Marine Science*, 35, 101184.
- Nelson, D. E., Rammesmayer, G., & Bohnert, H. J. (1998). Regulation of cell-specific inositol metabolism and transport in plant salinity tolerance. *The Plant Cell*, 10(5), 753-764.
- Outten, F. W., Huffman, D. L., Hale, J. A., & O'Halloran, T. V. (2001). The independent cue and cus Systems confer copper tolerance during aerobic and anaerobic growth in *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 276(33), 30670-30677.
- Ouyang, X., & Guo, F. (2016). Paradigms of mangroves in treatment of anthropogenic wastewater pollution. *Science of the Total Environment*, 544, 971-979.
- Ouyang, X., Lee, S.Y., Connolly, R. M. & Kainz, M. J. (2018). Spatially-explicit valuation of coastal wetlands for cyclone mitigation in Australia and China. *Scientific Reports*, 8, 3035.
- Passari, A. K., Leo, V. V., Chandra, P., Kumar, B., Nayak, C., Hashem, A.,...Singh, B. P. (2018). Bioprospection of actinobacteria derived from freshwater sediments for their potential to produce antimicrobial compounds. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 68.
- Paul, D., Kumbhare, S. V., Mhatre, S. S., Chowdhury, S. P., Shetty, S. A., Marathe, N. P., & Shouche, Y. S. (2016). Exploration of microbial diversity and community structure of Lonar Lake: the only hypersaline meteorite crater lake within basalt rock. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1553.
- Paulson, J. N., Stine, O. C., Bravo, H. C., & Pop, M. (2013). Differential abundance analysis for microbial marker-gene surveys. *Nature methods*, 10(12), 1200-1202.
- Pinnell, L. J., & Turner, J. W. (2019). Shotgun metagenomics reveals the benthic microbial community response to plastic and bioplastic in a coastal marine environment. *Frontiers in microbiology*, 10, 1252.
- Polanía, J., Orozco Toro, C. A., & Ángel, I. Delta del río Ranchería (La Guajira Colombia): caudal, salinidad y transporte de sólidos y sobre composición y estructura de los manglares. *Actualidades Biológicas*, 28(84) p. 27-370304-3584.

-
- Polidoro, B. A., Carpenter, K. E., Collins, L., Duke, N. C., Ellison, A. M., Ellison, J. C.,...Livingstone, S. R. (2010). The loss of species: mangrove extinction risk and geographic areas of global concern. *PLoS One*, 5(4), e10095.
 - Rajivgandhi, G., Muneeswaran, T., Maruthupandy, M., Ramakritinan, C. M., Saravanan, K., Ravikumar, V., & Manoharan, N. (2018). Antibacterial and anticancer potential of marine endophytic actinomycetes *Streptomyces coeruleorubidus* GRG 4 (KY457708) compound against colistin resistant uropathogens and A549 lung cancer cells. *Microbial Pathogenesis*, 125, 325-335.
 - Ramírez-Flandes, S., González, B., & Ulloa, O., (2019). Redox traits characterize the organization of global microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116 (9), 3630–3635.
 - Rhoades, J. D., Manteghi, N. A., Shouse, P. J., & Alves, W. J. (1989). Estimating soil salinity from saturated soil-paste electrical conductivity. *Soil Science Society of America Journal*, 53(2), 428-433.
 - Rietz, D. N., & Haynes, R. J. (2003). Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(6), 845-854.
 - Rigonato, J., Kent, A. D., Gumiere, T., Branco, L. H. Z., Andreote, F. D., & Fiore, M. F. (2018). Temporal assessment of microbial communities in soils of two contrasting mangroves. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(1), 87-96.
 - Romana, L. K., Santiago, F. S., & Reeves, P. R. (1991). High level expression and purification of dthymidine diphospho-D-glucose 4, 6-dehydratase (rfbB) from *Salmonella* serovar typhimurium LT2. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 174(2), 846-852.
 - Saintilan, N., Khan, N. S., Ashe, E., Kelleway, J. J., Rogers, K., Woodroffe, C. D., & Horton, B. P. (2020). Thresholds of mangrove survival under rapid sea level rise. *Science*, 368(6495), 1118-1121.
 - Sangkanu, S., Rukachaisirikul, V., Suriyachadkun, C., & Phongpaichit, S. (2017). Evaluation of antibacterial potential of mangrove sediment-derived actinomycetes. *Microbial Pathogenesis*, 112, 303-312.
 - Schuerch, M., Spencer, T., Temmerman, S., Kirwan, M. L., Wolff, C., Lincke, D.,...Hinkel, J. (2018). Future response of global coastal wetlands to sea-level rise. *Nature*, 561(7722), 231-234.
 - Sengupta, S., Pramanik, A., Ghosh, A., & Bhattacharyya, M. (2015). Antimicrobial activities of actinomycetes isolated from unexplored regions of Sundarbans mangrove ecosystem. *BMC Microbiology*, 15(1), 170.
 - Spain, A. M., Krumholz, L. R., & Elshahed, M. S. (2009). Abundance, composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria. *The ISME journal*, 3(8), 992-1000.
 - Sparks, D. L., Page, A. L., Helmke, P. A., Loeppert, R. H., Rhoades, J. D., (1996). Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids. In: *Methods of Soil Analysis Part 3 Chemical Methods*. Soil Science Society of America, American Society of Agronomy, pp. 417e435.
 - Strohl, W. R. (2004). Antimicrobials. In: Bull AT, editor. *Microbial Diversity and Bioprospecting*. USA: ASM Press, p. 336–55.

- Su, X., Chu, Y., Li, H., Hou, Y., Zhang, B., Huang, Q.,... Tian, Y. (2011). Expression of multiple resistance genes enhances tolerance to environmental stressors in transgenic poplar (*Populusx euramericana* 'Guariento'). *PLoS One*, 6(9), e24614.
- Summers, A. O. (2006). Genetic linkage and horizontal gene transfer, the roots of the antibiotic multiresistance problem. *Animal Biotechnology*, 17, 125–135.
- Tan, L. T. H., Chan, K. G., Pusparajah, P., Yin, W. F., Khan, T. M., Lee, L. H., & Goh, B. H. (2019). Mangrove derived *Streptomyces* sp. MUM265 as a potential source of antioxidant and anticolon-cancer agents. *BMC microbiology*, 19(1), 38.
- Tendencia, E. A., & de la Peña, L. D. (2002). Level and percentage recovery of resistance to oxytetracycline and oxolinic acid of bacteria from shrimp ponds. *Aquaculture*, 213(1-4), 1-13.
- Thatoi, H., Behera, B. C., Mishra, R. R., & Dutta, S. K. (2013). Biodiversity and biotechnological potential of microorganisms from mangrove ecosystems: a review. *Annals of Microbiology*, 63(1), 1-19.
- Torres, G. G., Figueroa-Galvis, I., Muñoz-García, A., Polanía, J., & Vanegas, J. (2019). Potential bacterial bioindicators of urban pollution in mangroves. *Environmental Pollution*, 255, 113293.
- Udwary, D. W., Zeigler, L., Asolkar, R. N., Singan, V., Lapidus, A., & Fenical, W. (2007). Genome sequencing reveals complex secondary metabolome in the marine actinomycete *Salinispora tropica*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 104, 10376–81.
- Ul Hassan, S. S., Anjum, K., Abbas, S. Q., Akhter, N., Shagufta, B. I., Shah, S. A., & Tasneem, U. (2017). Emerging biopharmaceuticals from marine actinobacteria. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 49, 34-47.
- Vanegas, J., Muñoz-García, A., Pérez-Parra, K. A., Figueroa-Galvis, I., Mestanza, O., & Polanía, J. (2019). Effect of salinity on fungal diversity in the rhizosphere of the halophyte *Avicennia germinans* from a semi-arid mangrove. *Fungal Ecology*, 42, 100855.
- Vélez, F. L., & Polania, J. (2007). Structure and dynamics of the mangrove forest in the Rancheria River delta, Colombian Caribbean. *Revista de Biología Tropical*, 55(1), 11-21.
- Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37(1), 29-38.
- Walsh, F., & Duffy, B. (2013). The culturable soil antibiotic resistome: a community of multi-drug resistant bacteria. *PLoS One*, 8(6), e65567.
- Wei, Y., Zhang, L., Zhou, Z., & Yan, X. (2018). Diversity of gene clusters for polyketide and nonribosomal peptide biosynthesis revealed by metagenomic analysis of the yellow sea sediment. *Frontiers in Microbiology*, 9, 295.
- Wells, J. S., Trejo, W. H., Principe, P. A., Bush, K., Georgopapadakou, N., Bonner, D. P., & Sykes, R. B. (1982). SQ 26,180, a novel monobactam. I Taxonomy, fermentation and biological properties. *The Journal of Antibiotics*, 35(2), 184-188.
- Wexler, H. M. (2007). Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(4), 593-621.
- Zhang, M., Sun, Y., Chen, L., Cai, C., Qiao, F., Du, Z., & Li, E. (2016). Symbiotic bacteria in gills and guts of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) differ from the free-living bacteria in water. *PLoS One*, 11(1), e0148135.

- Zhao, H., Yan, B., Mo, X., Li, P., Li, B., Li, Q.,...Wu, B. (2019). Prevalence and proliferation of antibiotic resistance genes in the subtropical mangrove wetland ecosystem of South China Sea. *MicrobiologyOpen*, 8(11), e871.
- Zheng, Z., Zeng, W., Huang, Y., Yang, Z., Li, J., & Cai, H. (2000). Detection of antitumor and antimicrobial activities in marine organism associated actinomycetes isolated from the Taiwan Strait, China. *FEMS Microbiology Letters*, 188, 87–98.

A. Anexo: Tablas suplementarias

Tabla S1: Resumen de secuenciamiento de las muestras de suelos del manglar en sitios con salinidades contrastantes (alta: 4H, media: 2M, baja: 3L) en el delta del río Ranchería, Colombia (noviembre de 2015). Secuenciación de escopeta en plataforma Illumina Hiseq2500(% PF: 100)

ID Muestra	Index	Yield (Mbases)	# Lecturas	% of raw clusters per lane	% Perfect Index Reads	% One Mismatch Reads (Index)	% of >= Q30 Bases (PF)	Mean Quality Score (PF)
2A	CGATGT	4.701	31.130,27	10,48	97,36	2,64	92,89	37,00
2B	TGACCA	4.689	31.055,19	10,45	98,93	1,07	92,95	37,01
2C	ACAGTG	4.973	32.932,184	11,08	97,52	2,48	94,01	37,35
3A	GCCAAT	5.281	34.975,99	11,77	98,88	1,12	94,94	37,66
3B	CAGATC	5.116	33.881,72	11,40	98,56	1,44	93,99	37,36
3C	CTTGTA	5.492	36.373,77	12,24	99,03	0,97	94,70	37,59
4A	AGTCAA	4.778	31.642,73	10,65	98,81	1,19	93,99	37,34
4B	AGTTCC	4.770	31.590,18	10,63	98,97	1,03	94,34	37,47
4C	ATGTCA	4.613	30.548,48	10,28	98,44	1,56	92,94	37,00

Tabla S2: Abundancia de filos de actinobacterias identificadas en sitios con salinidades contrastantes (alta: 4H, media: 2M, baja: 3L) en el delta del río Ranchería, Colombia (noviembre de 2015). Significancias: ***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$). Filos sin diferencias significativas según salinidad marcados con (-).

Filo	4H	2M	3L	% Lecturas	P valor
Proteobacteria	2,2138	3,2207	5,6136	55,33	(-)
Actinobacteria	0,2457	0,8075	0,8192	9,77	***
Bacteroidetes	0,3474	0,3786	0,8236	7,28	**
Planctomycetes	0,2672	0,3976	0,6153	6,49	(-)
Chloroflexi	0,1581	0,2705	0,4164	4,36	
Verrucomicrobia	0,1322	0,2091	0,2948	3,19	***
Firmicutes	0,1505	0,1508	0,3792	3,18	
Cyanobacteria	0,0966	0,1104	0,1907	1,95	
Nitrospirae	0,0928	0,0688	0,1513	1,52	**
Gemmatimonadetes	0,0406	0,0448	0,0904	0,87	
Deinococcus-Thermus	0,0247	0,0357	0,0561	0,58	
Spirochaetes	0,0256	0,0287	0,0517	0,54	
Ignavibacteriae	0,0118	0,0189	0,0494	0,41	
Chlamydiae	0,0075	0,0161	0,0164	0,23	***
Chlorobi	0,0099	0,0110	0,0201	0,20	**
Armatimonadetes	0,0056	0,0070	0,0130	0,13	
Aquificae	0,0053	0,0055	0,0096	0,10	
Nitrospinae	0,0061	0,0052	0,0103		
Synergistetes	0,0045	0,0057	0,0095	0,10	**
Deferribacteres	0,0035	0,0044	0,0079	0,08	(-)

Tabla S2: (Continuación).

Filo	4H	2M	3L	% Lecturas	P valor
Thermotogae	0,0030	0,0036	0,0061	0,06	**
Thermodesulfobacteria	0,0026	0,0029	0,0050	0,05	*
Chrysiogenetes	0,0016	0,0020	0,0036	0,04	(-)
Lentisphaerae	0,0014	0,0019	0,0033	0,03	
Fibrobacteres	0,0011	0,0012	0,0024	0,02	*
Fusobacteria	0,0010		0,0023		
Tenericutes	0,0006	0,0009	0,0015		0,01
Dictyoglomi	0,0005	0,0005	0,0011		
Elusimicrobia		0,0007	0,0014		
Caldiserica	0,0003	0,0004	0,0006	*	
Cloacimonetes	0,0004	0,0005	0,0008		**

Tabla S3: Abundancia de órdenes de Actinobacterias identificadas en sitios con salinidades contrastantes en el delta del río Ranchería, Colombia (noviembre de 2015). Salinidades: alta: 4H, media: 2M, baja: 3L. Significancias: ***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$. Órdenes sin diferencias significativas según salinidad marcados con (-).

Órdenes	4H	2M	3L	% Lecturas	P valor	FDR
Actinomycetales	0,0457	0,0934	0,0617	68,52	(-)	0,0001
Acidimicrobiales	0,0062	0,0164	0,0169	13,48	**	0,1121
Nitriliruptorales	0,0025	0,0093	0,0053	5,82	***	0,0005
Solirubrobacterales	0,0037	0,0070	0,0053	5,46	(-)	0,0001
Rubrobacterales	0,0022	0,0023	0,0016	2,09	***	0,0005
Coriobacteriales	0,0004	0,0004	0,0004	0,40	(-)	0,8924
Bifidobacteriales	0,0002	0,0002	0,0002	0,19		0,9281

Tabla S4: Abundancia de familias de actinobacterias identificadas en sitios con salinidades contrastantes (4H: alta; 2M: media; 3L: baja; noviembre de 2015). Valor p: *** <0,001; ** <0,01; * <0,05. Diferencias no significativas marcadas con (-).

Familia	Salinidad			% Reads	valores P	FDR
	4H	2M	3L			
Acidimicrobiaceae	6,23x10 ⁻³	1,64x10 ⁻²	1,69x10 ⁻²	13,48	***	1,90x10 ⁻³
Streptomycetaceae	7,41x10 ⁻³	1,65x10 ⁻²	8,72x10 ⁻³	11,14	(-)	1,34x10 ⁻¹
Mycobacteriaceae	6,12x10 ⁻³	1,20x10 ⁻²	1,06x10 ⁻²	9,79	*	8,02x10 ⁻²
Pseudonocardiaceae	6,38x10 ⁻³	1,08x10 ⁻²	7,03x10 ⁻³	8,25	(-)	2,10x10 ⁻¹
Nitriliruptoraceae	2,45x10 ⁻³	9,34x10 ⁻³	5,26x10 ⁻³	5,82	**	3,24x10 ⁻²
Nocardioideae	2,10x10 ⁻³	8,77x10 ⁻³	5,38x10 ⁻³	5,55	***	1,90x10 ⁻³
Micromonosporaceae	2,46x10 ⁻³	7,09x10 ⁻³	4,17x10 ⁻³	4,68	**	2,92x10 ⁻²
Nocardiaceae	2,83x10 ⁻³	4,14x10 ⁻³	2,89x10 ⁻³	3,36	*	7,45x10 ⁻²
Frankiaceae	2,48x10 ⁻³	3,01x10 ⁻³	2,25x10 ⁻³	2,64	**	1,97x10 ⁻²
Intrasporangiaceae	1,25x10 ⁻³	2,85x10 ⁻³	2,77x10 ⁻³	2,35		1,82x10 ⁻²
Rubrobacteraceae	2,22x10 ⁻³	2,29x10 ⁻³	1,63x10 ⁻³	2,09	***	1,90x10 ⁻³
Streptosporangiaceae	1,56x10 ⁻³	2,78x10 ⁻³	1,72x10 ⁻³	2,07	(-)	2,19x10 ⁻¹
Microbacteriaceae	1,34x10 ⁻³	2,51x10 ⁻³	2,18x10 ⁻³	2,06	***	7,10x10 ⁻³
Solirubrobacteraceae	1,33x10 ⁻³	2,57x10 ⁻³	2,04x10 ⁻³	2,03	(-)	2,83x10 ⁻¹
Conexibacteraceae	1,27x10 ⁻³	2,56x10 ⁻³	1,88x10 ⁻³	1,95		3,78x10 ⁻¹
<i>Thermomonosporaceae</i>	1,36x10 ⁻³	2,29x10 ⁻³	1,27x10 ⁻³	1,68	**	3,01x10 ⁻²
Geodermatophilaceae	1,24x10 ⁻³	2,12x10 ⁻³	1,28x10 ⁻³	1,59		2,83x10 ⁻¹
Jiangellaceae	6,00x10 ⁻⁴	3,10x10 ⁻³	7,28x10 ⁻⁴	1,51	(-)	2,65x10 ⁻¹
Micrococcaceae	1,11x10 ⁻³	1,93x10 ⁻³	1,29x10 ⁻³	1,48		7,90x10 ⁻¹
Nocardiopsaceae	1,33x10 ⁻³	1,98x10 ⁻³	9,84x10 ⁻⁴	1,47	*	2,00x10 ⁻⁴
Gordoniaceae	7,14x10 ⁻⁴	1,12x10 ⁻³	8,47x10 ⁻⁴	0,92	(-)	9,55x10 ⁻¹
Cellulomonadaceae	5,06x10 ⁻⁴	1,15x10 ⁻³	7,68x10 ⁻⁴	0,83		1,98x10 ⁻¹
Corynebacteriaceae	6,58x10 ⁻⁴	9,09x10 ⁻⁴	7,07x10 ⁻⁴	0,78	(-)	8,24x10 ⁻¹
Patulibacteraceae	5,61x10 ⁻⁴	9,84x10 ⁻⁴	7,18x10 ⁻⁴	0,77		9,55x10 ⁻¹
Demequinaceae	2,12x10 ⁻⁴	8,63x10 ⁻⁴	1,15x10 ⁻³	0,76		4,00x10 ⁻⁴
Propionibacteriaceae	5,10x10 ⁻⁴	7,71x10 ⁻⁴	5,89x10 ⁻⁴	0,64		7,42x10 ⁻¹
Glycomycetaceae	3,69x10 ⁻⁴	1,07x10 ⁻³	4,05x10 ⁻⁴	0,63		*
Actinomycetaceae	4,36x10 ⁻⁴	5,21x10 ⁻⁴	4,00x10 ⁻⁴	0,46		3,30x10 ⁻²
Promicromonosporaceae	2,10x10 ⁻⁴	5,77x10 ⁻⁴	5,06x10 ⁻⁴	0,44	**	1,40x10 ⁻²

Table S4: (Continuación).

Familia	Salinidad			% Reads	valores P	FDR
	4H	2M	3L			
Coriobacteriaceae	4,00x10 ⁻⁴	3,97x10 ⁻⁴	3,63x10 ⁻⁴	0,40	*	6,67x10 ⁻²
Sporichthyaceae	2,51x10 ⁻⁴	4,46x10 ⁻⁴	3,82x10 ⁻⁴	0,37	***	5,60x10 ⁻³
Actinopolysporaceae	2,17x10 ⁻⁴	5,47x10 ⁻⁴	2,99x10 ⁻⁴	0,36	(-)	4,41x10 ⁻¹
Nakamurellaceae	2,04x10 ⁻⁴	3,80x10 ⁻⁴	3,02x10 ⁻⁴	0,30	*	3,30x10 ⁻²
Cryptosporangiaceae	1,84x10 ⁻⁴	4,17x10 ⁻⁴	2,42x10 ⁻⁴	0,29	(-)	6,22x10 ⁻¹
Catenulisporaceae	2,29x10 ⁻⁴	2,97x10 ⁻⁴	1,98x10 ⁻⁴	0,25	**	2,49x10 ⁻²
Dermatophilaceae	1,77x10 ⁻⁴	2,72x10 ⁻⁴	2,39x10 ⁻⁴	0,23	(-)	1,80x10 ⁻¹
Acidothermaceae	1,79x10 ⁻⁴	3,13x10 ⁻⁴	1,95x10 ⁻⁴	0,23	**	2,92x10 ⁻²
Dermacoccaceae	1,50x10 ⁻⁴	2,65x10 ⁻⁴	2,25x10 ⁻⁴	0,22		3,24x10 ⁻²
Bifidobacteriaceae	1,77x10 ⁻⁴	2,21x10 ⁻⁴	1,69x10 ⁻⁴	0,19		2,19x10 ⁻¹
Dermabacteraceae	1,49x10 ⁻⁴	2,35x10 ⁻⁴	1,50x10 ⁻⁴	0,18		4,54x10 ⁻¹
Brevibacteriaceae	1,30x10 ⁻⁴	2,25x10 ⁻⁴	1,37x10 ⁻⁴	0,17		3,34x10 ⁻¹
Actinospicaceae	8,88x10 ⁻⁵	2,18x10 ⁻⁴	1,30x10 ⁻⁴	0,15		3,92x10 ⁻¹
Beutenbergiaceae	8,37x10 ⁻⁵	1,79x10 ⁻⁴	9,01x10 ⁻⁵	0,12	(-)	3,50x10 ⁻¹
Dietziaceae	7,90x10 ⁻⁵	1,03x10 ⁻⁴	8,10x10 ⁻⁵	0,09		1,80x10 ⁻¹
Tsukamurellaceae	6,59x10 ⁻⁵	9,32x10 ⁻⁵	6,18x10 ⁻⁵	0,08		1,54x10 ⁻¹
Ruaniaceae	4,28x10 ⁻⁵	8,96x10 ⁻⁵	6,72x10 ⁻⁵	0,07		4,50x10 ⁻¹
Kineosporiaceae	4,05x10 ⁻⁵	9,10x10 ⁻⁵	6,28x10 ⁻⁵	0,07		5,23x10 ⁻¹
Segniliparaceae	4,02x10 ⁻⁵	6,30x10 ⁻⁵	3,98x10 ⁻⁵	0,05	*	1,01x10 ⁻¹
Jonesiaceae	2,99x10 ⁻⁵	5,02x10 ⁻⁵	3,46x10 ⁻⁵	0,04		3,07x10 ⁻¹
Sanguibacteraceae	3,07x10 ⁻⁵	4,60x10 ⁻⁵	3,58x10 ⁻⁵	0,04	(-)	9,51x10 ⁻¹
Williamsiaceae	2,45x10 ⁻⁵	2,78x10 ⁻⁵	1,76x10 ⁻⁵	0,02		2,19x10 ⁻¹

Tabla S5: Abundancia de géneros de actinobacterias identificados en sitios con salinidades contrastantes (alta: 4H, media: 2M, baja: 3L) en el delta del río Ranchería, Colombia (noviembre de 2015). Significancias: ***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$). Géneros sin diferencias significativas según salinidad marcados con (-).

Género	Salinidad			% Lecturas	P valor	FDR
	4H	2M	3L			
<i>Ilumatobacter</i>	0,0051	0,0141	0,0156	11,85	**	0,0037
<i>Streptomyces</i>	0,0067	0,0148	0,0078	10,00	(-)	0,0288
<i>Mycobacterium</i>	0,0061	0,0118	0,0105	9,70		0,0167
<i>Nitriliruptor</i>	0,0025	0,0093	0,0053	5,82	*	0,0079
<i>Nocardioides</i>	0,0010	0,0049	0,0033	3,14	(-)	0,0004
<i>Frankia</i>	0,0025	0,0030	0,0023	2,64	**	0,0012
<i>Pseudonocardia</i>	0,0021		0,0019	2,34		0,0012
<i>Nocardia</i>	0,0018	0,0026	0,0018	2,10	*	0,0111
<i>Rubrobacter</i>	0,0022	0,0023	0,0016	2,09	***	0,0005
<i>Solirubrobacter</i>	0,0013	0,0026	0,0020	2,03	(-)	0,0509
<i>Conexibacter</i>			0,0019	1,95		0,0640
<i>Amycolatopsis</i>		0,0025	0,0016	1,82		0,0726
<i>Jiangella</i>	0,0006	0,0031	0,0007	1,51		0,0193
<i>Actinoplanes</i>	0,0008	0,0020	0,0013	1,40		0,0652
<i>Actinomadura</i>	0,0010	0,0016	0,0009	1,20	***	0,0006
<i>Rhodococcus</i>	0,0009	0,0014		1,06	*	0,0159
<i>Nocardiopsis</i>	0,0010	0,0014	0,0007	1,04	(-)	0,0002
<i>Microbacterium</i>	0,0006	0,0013	0,0012	1,03	***	0,0006
<i>Gordonia</i>	0,0007	0,0011	0,0009	0,92	(-)	0,0769
<i>Arthrobacter</i>		0,0012	0,0008	0,91		0,0677
<i>Saccharomonospora</i>	0,0006	0,0011	0,0007	0,84		0,0632
<i>Marmoricola</i>	0,0002	0,0014		0,80	0,0004	
<i>Blastococcus</i>	0,0007	0,0010	0,0006		***	0,0011
<i>Patulibacter</i>	0,0006		0,0007	0,77	(-)	0,0775
<i>Micromonospora</i>	0,0003	0,0012	0,0007	0,76	***	0,0011
<i>Salinispora</i>	0,0004	0,0011	0,0007	0,73	**	0,0028
<i>Acidithrix</i>	0,0005	0,0010	0,0006	0,72	(-)	0,0314
<i>Corynebacterium</i>	0,0006	0,0008	0,0007			0,0648

Tabla S5: (Continuación).

Género	Salinidad			% Lecturas	P valor	FDR	
	4H	2M	3L				
<i>Cellulomonas</i>	0,0004	0,0009	0,0006	0,67	(-)	0,0332	
<i>Demequina</i>	0,0002	0,0007	0,0009	0,63		0,0002	
<i>Actinopolymorpha</i>	0,0003	0,0010	0,0005	0,62		0,0873	
<i>Streptacidiphilus</i>	0,0005	0,0007		0,59	0,0553		
<i>Intrasporangium</i>	0,0003		0,0007	0,58	**	0,0036	
<i>Kribbella</i>		0,0009	0,0004	0,55	(-)	0,0178	
<i>Streptosporangium</i>	0,0008	0,54		0,0314			
<i>Nonomuraea</i>	0,0004	0,0007		0,51	*	0,0057	
<i>Saccharothrix</i>				0,0003	0,50	(-)	0,0297
<i>Microbispora</i>					0,49		0,0332
<i>Acidimicrobium</i>	0,47			0,0549			
<i>Dactylosporangium</i>	0,0003			0,45	0,0388		
<i>Saccharopolyspora</i>	0,0002			0,0006	0,42		0,0961
<i>Glycomyces</i>	0,0002			0,0008	0,0002		0,0178
<i>Ferrimicrobium</i>	0,0003			0,0006	0,0003	*	0,0106
<i>Tetrasphaera</i>			0,0005	0,0005	(-)	0,0185	
<i>Sporichthya</i>			0,0004	0,37	**	0,0019	
<i>Actinopolyspora</i>	0,0002	0,0006	0,0003	(-)	0,0395		
<i>Catelliglobospora</i>		0,0004			0,36	0,0518	
<i>Kitasatospora</i>			0,33	0,0825			
<i>Knoellia</i>		0,32	*	0,0070			
<i>Kutzneria</i>	0,0003	0,0005	0,0003	(-)	0,0079		
<i>Hamadaea</i>	0,0001				0,31	0,0193	
<i>Nakamurella</i>	0,0002			0,0004	0,30	*	0,0106
<i>Thermomonospora</i>		0,0002	0,29		(-)	0,0772	
<i>Cryptosporangium</i>						0,0556	
<i>Herbidospora</i>		0,0419					
<i>Propionibacterium</i>		0,0624					
<i>Actinomyces</i>	0,0003	0,0003	0,28		0,0205		
<i>Thermocrisum</i>	0,0002	0,0004	0,0002	**	0,0055		
<i>Lechevaleria</i>		0,0003	0,26	(-)	0,0509		

Tabla S5: (Continuación).

Género	Salinidad			% Lecturas	P valor	FDR
	4H	2M	3L			
<i>Actinokineospora</i>	0,0002	0,0003	0,0002	0,26	(-)	0,0652
<i>Kibdelosporangium</i>			0,0003			0,0481
<i>Aeromicrobium</i>	0,0001	0,0004	0,0002	0,25	**	0,0019
<i>Catenulispora</i>	0,0002	0,0003	0,0002	0,25	**	0,0025
<i>Acidothermus</i>				0,24		0,0031
<i>Microtetraspora</i>	0,0001	0,0003	0,0002	0,23	(-)	0,0845
<i>Actinocatenispora</i>				*	0,0079	
<i>Kocuria</i>	0,0002	0,0004	0,0004	0,22	(-)	0,0168
<i>Verrucosipora</i>	0,0001				*	0,0090
<i>Phycococcus</i>		0,0002	0,0002	0,0004	**	
<i>Ornithinimicrobium</i>	0,0001	0,0003	0,0002	0,21	(-)	0,0196
<i>Modestobacter</i>		0,0002			0,0825	
<i>Smaragdicooccus</i>	0,0002	0,0002	0,0001	0,20	***	0,0005
<i>Allosalinactinospora</i>		0,0003			*	0,0118
<i>Thermobispora</i>	0,0002	0,0002	0,0002	0,19	**	0,0104
<i>Actinomycetospora</i>		0,0003	0,0001			0,0001
<i>Spirillospora</i>	0,0001			0,0772		
<i>Serinicoccus</i>	0,0001	0,0003	0,0002	0,18	(-)	0,0782
<i>Longispora</i>		0,0002	0,0001			0,0726
<i>Brevibacterium</i>	0,0001			0,0002	0,0001	0,17
<i>Geodermatophilus</i>		0,16	0,0652			
<i>Stackebrandtia</i>	0,0001	0,0002	0,0001	0,15	(-)	0,0556
<i>Actinospica</i>						0,0611
<i>Brachybacterium</i>	0,0001	0,0002	0,0001	0,15	*	0,0332
<i>Microlunatus</i>						0,0123
<i>Bifidobacterium</i>	0,0001	0,0002	0,0001	0,14	(-)	0,0338
<i>Leifsonia</i>						0,0518
<i>Sciscionella</i>	0,0001	0,0002	0,0001	0,13	(-)	0,0449
<i>Isoptericola</i>						0,0297
<i>Pimelobacter</i>	4,00x10 ⁻⁵	0,0001	0,0002	0,13	**	0,0015
<i>Lysinimicrobium</i>			0,0001		0,0004	
<i>Leucobacter</i>	0,0001	0,0002	0,0001	0,13	(-)	0,0951
<i>Thermobifida</i>						*

Tabla S5: (Continuación).

Género	Salinidad			% Lecturas	P valor	FDR	
	4H	2M	3L				
<i>Allokutzneria</i>	0,0001	0,0002	0,0001	0,12	(-)	0,0314	
<i>Beutenbergia</i>					**	0,0071	
<i>Promicromonospora</i>	4,00x10 ⁻⁵	0,0001		0,11	(-)	0,0013	
<i>Nesterenkonia</i>	0,0001					0,1000	
<i>Terrabacter</i>	4,00x10 ⁻⁵	0,0001		0,10	(-)	0,0185	
<i>Janibacter</i>	0,0001					0,0481	
<i>Streptomonospora</i>		0,0001		0,0002	0,10	*	0,0708
<i>Amycoliticoccus</i>	0,0135						
<i>Glaciibacter</i>	0,0001	0,0001		0,09	(-)	0,0717	
<i>Mobilicoccus</i>						0,0332	
<i>Dietzia</i>	4,00x10 ⁻⁵	0,0001		0,09	***	0,0193	
<i>Xylanimonas</i>						0,0011	
<i>Luteipulveratus</i>	0,0001	0,0001		0,08	(-)	**	0,0012
<i>Actinoalloteichus</i>						0,0418	
<i>Prauserella</i>	3,00x10 ⁻⁵	0,0001		0,08	(-)	*	0,0408
<i>Actinosynnema</i>						0,0749	
<i>Terracoccus</i>	0,0001	0,0001		0,08	(-)	**	0,0034
<i>Tsukamurella</i>	4,00x10 ⁻⁵					*	0,0139
<i>Actinotalea</i>	0,0001	0,0001		0,07	(-)	*	0,0825
<i>Citricoccus</i>	4,00x10 ⁻⁵					0,0652	
<i>Cellulosimicrobium</i>	0,0001	0,0001	0,07	(-)	*	0,0118	
<i>Ruania</i>					0,0652		
<i>Granulicoccus</i>	0,0001	0,0001	0,06	(-)		0,0418	
<i>Kineococcus</i>	4,00x10 ⁻⁵				0,0668		
<i>Lentzea</i>	0,0001	0,0001	0,06	(-)		0,0632	
<i>Kineosphaera</i>					0,0343		
<i>Demetria</i>	4,00x10 ⁻⁵	0,0001	0,06	(-)		0,0237	
<i>Arsenicicoccus</i>					0,0518		
<i>Propionicicella</i>	0,0001	0,0001	0,06	(-)		0,0648	
<i>Actinobaculum</i>					0,0180		
<i>Tomitella</i>	0,0001	0,0001	0,06	(-)		0,0603	
<i>Collinsella</i>					0,0343		

Tabla S5: (Continuación).

Género	Salinidad			% Lecturas	P valor	FDR			
	4H	2M	3L						
<i>Curtobacterium</i>	4,00x10 ⁻⁵	0,0001	0,0001	0,05	(-)	0,0314			
<i>Cryobacterium</i>	0,0001		0,0001			0,0717			
<i>Olsenella</i>			4,00x10 ⁻⁵			0,0183			
<i>Austwickia</i>	3,00x10 ⁻⁵		0,0001			0,0338			
<i>Clavibacter</i>	4,00x10 ⁻⁵		0,0001			0,0726			
<i>Kytococcus</i>			0,0001			0,0473			
<i>Segniliparus</i>			4,00x10 ⁻⁵			*	0,0139		
<i>Sinomonas</i>			4,00x10 ⁻⁵			(*)	0,0652		
<i>Haloglycomyces</i>			3,00x10 ⁻⁵			**	0,0018		
<i>Aestuariimicrobium</i>	3,00x10 ⁻⁵		0,0001			0,0176			
<i>Pseudoclavibacter</i>	4,00x10 ⁻⁵		4,00x10 ⁻⁵			0,0940			
<i>Slackia</i>	3,00x10 ⁻⁵	4,00x10 ⁻⁵	(-)	0,0758					
<i>Oerskovia</i>		0,0001		0,0508					
<i>Rothia</i>		0,0001		0,0797					
<i>Hoyosella</i>	0,0001	4,00x10 ⁻⁵	3,00x10 ⁻⁵	**	0,0031				
<i>Jonesia</i>	3,00x10 ⁻⁵	0,0001	0,04	(-)	0,0408				
<i>Atopobium</i>	4,00x10 ⁻⁵	4,00x10 ⁻⁵			0,0648				
<i>Sanguibacter</i>	3,00x10 ⁻⁵	0,0001			4,00x10 ⁻⁵	0,0984			
<i>Gryllotalpicola</i>		4,00x10 ⁻⁵			4,00x10 ⁻⁵	0,0652			
<i>Tessaracoccus</i>		3,00x10 ⁻⁵			3,00x10 ⁻⁵	0,0772			
<i>Mobiluncus</i>		3,00x10 ⁻⁵			4,00x10 ⁻⁵	0,0481			
<i>Paraoerskovia</i>		2,00x10 ⁻⁵			0,0001	3,00x10 ⁻⁵	*	0,0135	
<i>Humibacter</i>	3,00x10 ⁻⁵	4,00x10 ⁻⁵			2,00x10 ⁻⁵	(-)	0,0797		
<i>Micrococcus</i>							0,0652		
<i>Eggerthella</i>							*	0,0070	
<i>Trueperella</i>							3,00x10 ⁻⁵	4,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵
<i>Agrococcus</i>			2,00x10 ⁻⁵	3,00x10 ⁻⁵			0,0829		
<i>Enterorhabdus</i>	3,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵	0,03	***	0,0011			
<i>Gardnerella</i>		2,00x10 ⁻⁵			(-)	0,0538			
<i>Dermatophilus</i>	2,00x10 ⁻⁵	3,00x10 ⁻⁵	3,00x10 ⁻⁵	(-)	**	0,0036			
<i>Gulosibacter</i>					0,0167				
<i>Herbiconiux</i>					2,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵	0,1000		
<i>Williamsia</i>					0,02	0,0314			

Tabla S5: (Continuación).

Género	Salinidad			% Lecturas	P valor	FDR				
	4H	2M	3L							
<i>Cryptobacterium</i>	2,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵	0,02	(-)	0,0807				
<i>Enorma</i>		3,00x10 ⁻⁵	1,00x10 ⁻⁵			0,0424				
<i>Gordonibacter</i>		2,00x10 ⁻⁵	3,00x10 ⁻⁵			0,0776				
<i>Timonella</i>	1,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵			0,0786				
<i>Agreia</i>	2,00x10 ⁻⁵					0,0734				
<i>Varibaculum</i>	2,00x10 ⁻⁵					0,0640				
<i>Yaniella</i>						2,00x10 ⁻⁵	0,0772			
<i>Senegalimassilia</i>	1,00x10 ⁻⁵	3,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵			0,0731				
<i>Salinibacterium</i>						0,0717				
<i>Dermacoccus</i>	1,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵	1,00x10 ⁻⁵			0,0338				
<i>Arcanobacterium</i>	2,00x10 ⁻⁵					1,00x10 ⁻⁵	*	0,0097		
<i>Adlercreutzia</i>	1,00x10 ⁻⁵					2,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵	0,0549		
<i>Mycetocola</i>								1,00x10 ⁻⁵	0,0518	
<i>Acaricomes</i>				1,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵			2,00x10 ⁻⁵	0,0984	
<i>Flaviflexus</i>									0,0343	
<i>Rathayibacter</i>				1,00x10 ⁻⁵	2,00x10 ⁻⁵			2,00x10 ⁻⁵	*	0,0118
<i>Turicella</i>									0,0726	
<i>Asanoa</i>									0,0577	
<i>Coriobacterium</i>				2,00x10 ⁻⁵	1,00x10 ⁻⁵			1,00x10 ⁻⁵	*	0,0103
<i>Cryocola</i>	0,00	0,0970								
<i>Frigoribacterium</i>	1,00x10 ⁻⁵	1,00x10 ⁻⁵	1,00x10 ⁻⁵	(-)		0,0632				
<i>Propionimicrobium</i>	2,00x10 ⁻⁵					0,0794				
<i>Dermabacter</i>	1,00x10 ⁻⁵					2,00x10 ⁻⁵	0,0343			
<i>Tropheryma</i>						1,00x10 ⁻⁵	0,0712			

Tabla S6: Géneros de actinobacterias y principales genes identificados en sitios con salinidades contrastantes en el delta del río Ranchería, Colombia (noviembre de 2015).

Género	Gen													
	acpD	asd	aspB	cysD	fabG	INO1	lysC	pac	proA	proB	rfbA	rfbB	rffG	sat
<i>Acidimicrobium</i>										X				
<i>Acidothermus</i>				X	X									
<i>Actinoalloteichus</i>														
<i>Actinobaculum</i>														
<i>Actinomadura</i>											X		X	
<i>Actinomyces</i>										X				
<i>Actinoplanes</i>				X										
<i>Actinopolymorpha</i>														
<i>Actinopolyspora</i>												X		
<i>Actinosynnema</i>														
<i>Actinotalea</i>														
<i>Adlercreutzia</i>										X				
<i>Aeromicrobium</i>				X							X			
<i>Agrococcus</i>										X				
<i>Agromyces</i>				X										
<i>Allokutzneria</i>														
<i>Amycolatopsis</i>				X						X				
<i>Arcanobacterium</i>														
<i>Arsenicicoccus</i>					X									
<i>Arthrobacter</i>		X		X	X				X	X				X
<i>Austwickia</i>														
<i>Beutenbergia</i>											X			
<i>Bifidobacterium</i>		X							X	X				
<i>Blastococcus</i>														
<i>Brachybacterium</i>												X		
<i>Brevibacterium</i>		X		X	X									X
<i>Catenulispora</i>											X			
<i>Cellulomonas</i>														
<i>Cellulosimicrobium</i>														
<i>Citricoccus</i>		X									X			

Tabla S6: (Continuación).

Género	Gen													
	acpD	asd	aspB	cysD	fabG	INO1	lysC	pac	proA	proB	rfbA	rfbB	rffG	sat
<i>Clavibacter</i>					X						X			
<i>Collinsella</i>														
<i>Conexibacter</i>				X						X		X		
<i>Coriobacterium</i>														
<i>Corynebacterium</i>	X	X		X		X	X		X		X			
<i>Cryobacterium</i>														
<i>Cryptobacterium</i>														
<i>Curtobacterium</i>										X	X			
<i>Dermabacter</i>					X							X		
<i>Dermacoccus</i>											X			
<i>Dermatophilus</i>														
<i>Dietzia</i>				X										
<i>Eggerthella</i>										X				
<i>Flaviflexus</i>											X	X		
<i>Frankia</i>				X	X					X				
<i>Frigoribacterium</i>														
<i>Gardnerella</i>														
<i>Gardnerella</i>														
<i>Geodermatophilus</i>				X										
<i>Gordonia</i>														
<i>Gordonibacter</i>					X				X					
<i>Gryllotalpicola</i>										X				
<i>Herbiconiux</i>														
<i>Hoyosella</i>											X			
<i>Humibacter</i>										X		X		
<i>Ilumatobacter</i>														
<i>Intrasporangium</i>														
<i>Isoptericola</i>				X	X									
<i>Janibacter</i>														
<i>Jiangella</i>														
<i>Jonesia</i>														
<i>Kibdelosporangium</i>					X						X			

