

# Secuencias de virus en poblaciones naturales de *Anopheles darlingi* Root 1926 (Diptera: Culicidae) de tres regiones de Colombia

Juan C. Hernández Valencia, Giovan F. Gómez, Margarita M. Correa O

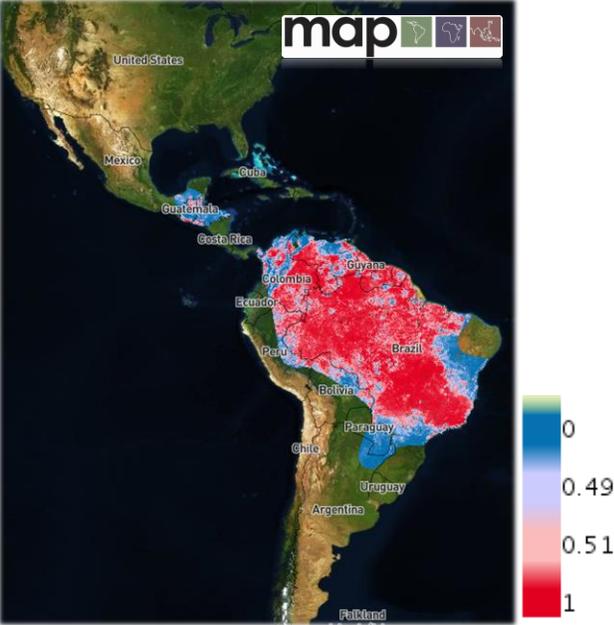


**UNIVERSIDAD  
DE ANTIOQUIA**

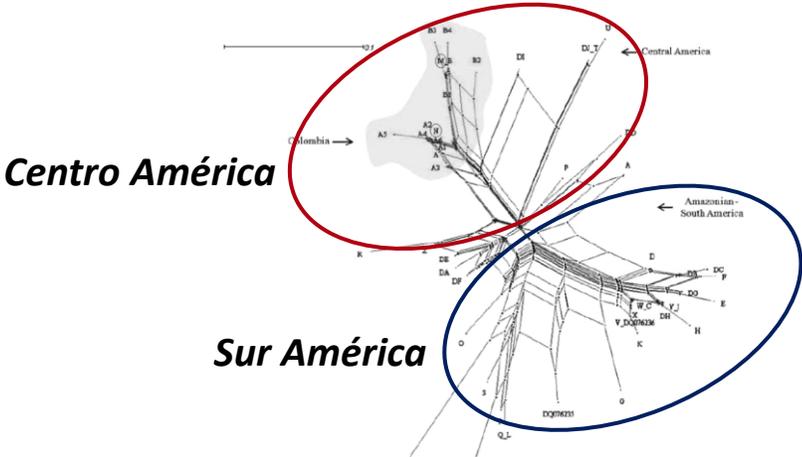
---

Grupo de Microbiología Molecular  
Escuela de Microbiología

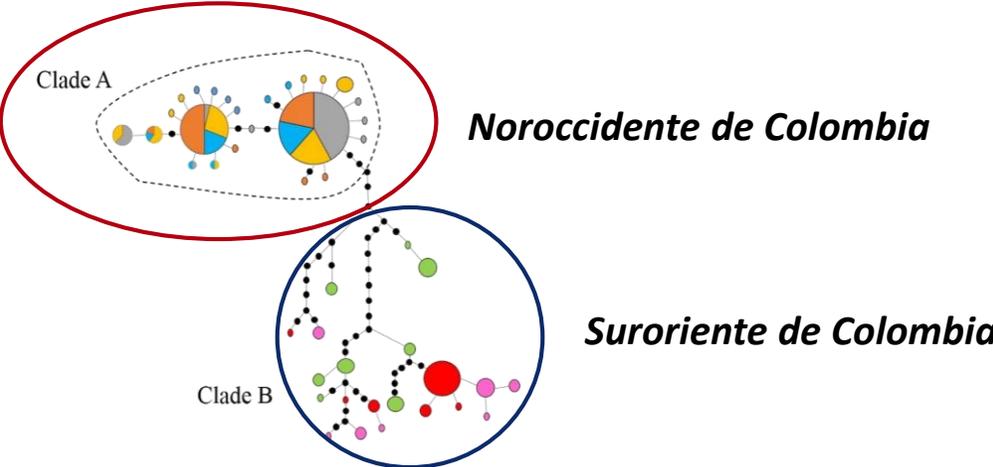
## Anopheles darlingi



Anopheles darlingi- Center for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library



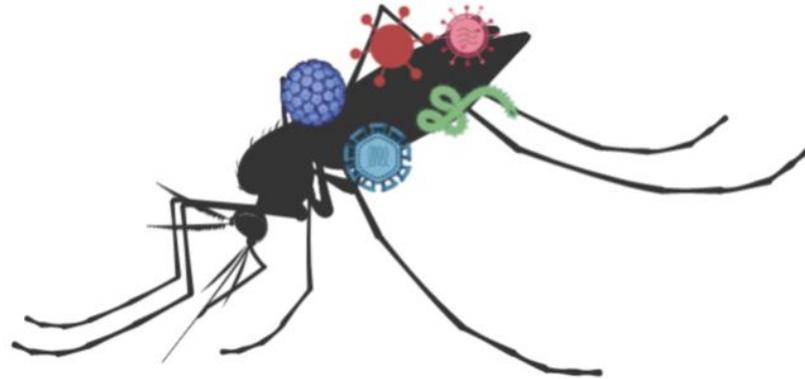
Tomado y modificado de Gutiérrez *et al.*, 2010



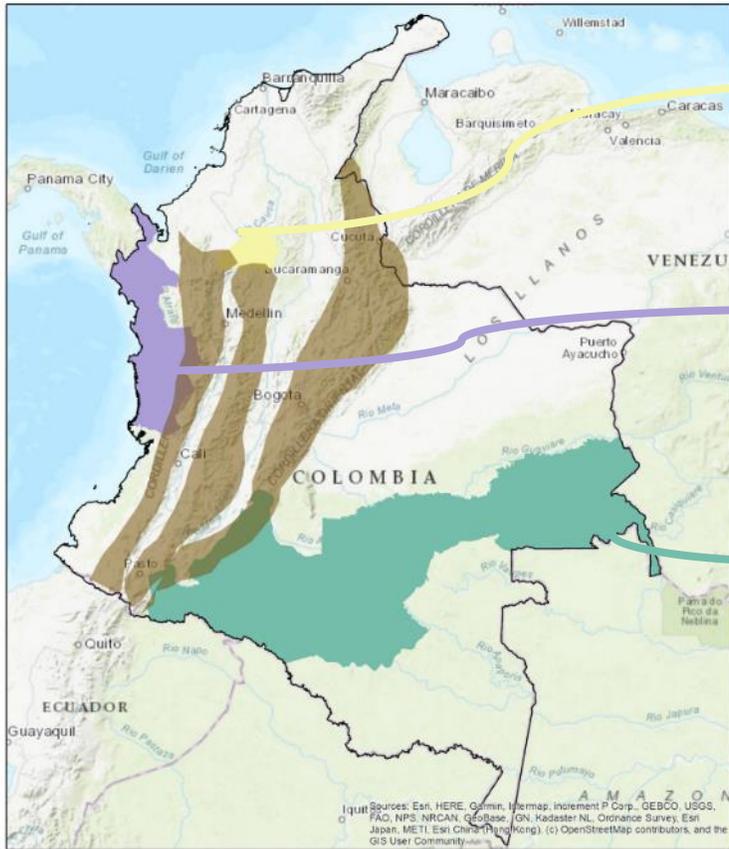
Tomado y modificado de Naranjo *et al.*, 2016

## Objetivo

Caracterizar la composición de secuencias de virus ARN y su estructura entre diferentes poblaciones de *Anopheles darlingi* en Colombia



## Muestreo de *Anopheles darlingi*



0 125 250 500 750 1.000 Kilometers  
figura creada con ArcMap v. 10.8.2

La Capilla  
Villa Grande

San Antonio  
Paimadó

Caño Negro  
Charras

- Cordillera de los Andes
- Subregiones
- Amazonas Nor-Occidental
- Pacifico Chocoano
- Bajo Cauca

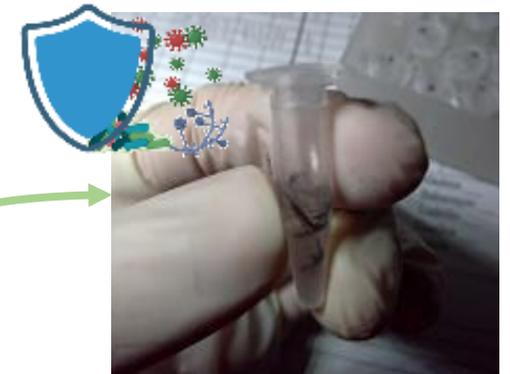
Recolecta: Atrayente Humano y  
Malla polisombra



Identificación  
morfológica



Conservación en ARN shield



## Conformación de la muestra

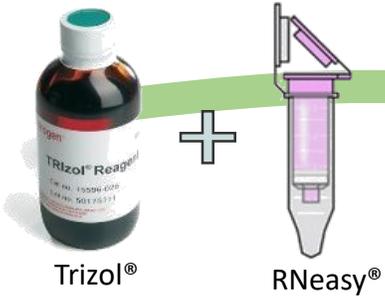


15 por pool  
*An. darlingi* / No grávidas / No alimentadas

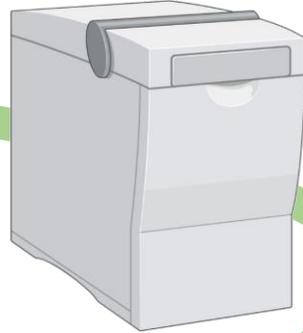
Región/ Localidad	Especie	Sexo (n)	Estado gonotrófico/ Estado de alimentación	ID del Pool
Bajo Cauca/ La Capilla	<i>Anopheles darlingi</i>	Hembras (15)	No grávidas/ No alimentadas	AdarBC1
Bajo Cauca/ La Capilla	<i>Anopheles darlingi</i>	Hembras (15)	No grávidas/ No alimentadas	AdarBC2
Bajo Cauca/ Villa Grande	<i>Anopheles darlingi</i>	Hembras (15)	No grávidas/ No alimentadas	AdarBC3
Bajo Cauca/ Villa Grande	<i>Anopheles darlingi</i>	Hembras (15)	No grávidas/ No alimentadas	AdarBC4
Pacífico/ San Antonio	<i>Anopheles darlingi</i>	Hembras (15)	No grávidas/ No alimentadas	AdarPC1
Pacífico/ San Antonio	<i>Anopheles darlingi</i>	Hembras (15)	No grávidas/ No alimentadas	AdarPC2
Pacífico/ San Antonio	<i>Anopheles darlingi</i>	Machos (10)	No aplica	AdarPC3
Amazonas/ Caño Negro	<i>Anopheles darlingi</i>	Hembras (15)	No grávidas/ No alimentadas	AdarAM1
Amazonas/ Charras	<i>Anopheles darlingi</i>	Hembras (15)	No grávidas/ No alimentadas	AdarAM2

## Procesamiento de la muestra y secuenciación

Extracción de ARN total



Cantidad e integridad  
Agilent 2100 Bioanalyzer



Secuenciación en NovaSeq 6000  
6Gb por muestra

Librería- TruSeq stranded  
total RNA +  
Ribo-Zero Gold

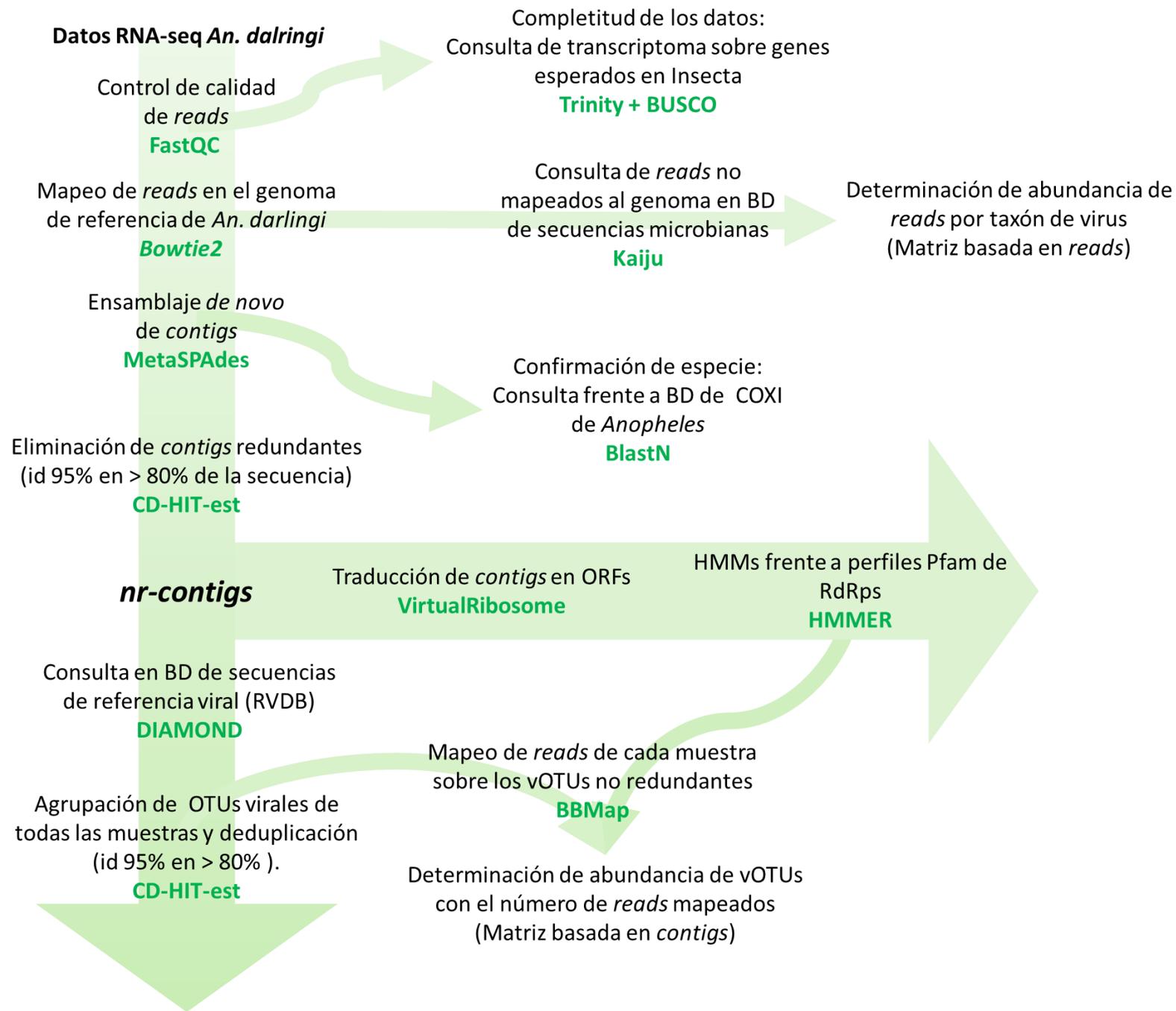


Figura creada con BioRender.com

Pool	Reads PE
AdarBC1	34885545
AdarBC2	34103154
AdarBC3	38644693
AdarBC4	44298715
AdarPC1	40688312
AdarPC2	44411203
AdarPC3	37709364
AdarAM1	44581293
AdarAM2	37833632

# Metodología

## Flujo de trabajo bioinformático aplicado a los datos RNA-seq



## Análisis de la composición del metaviroma en *An. darlingi* y sus diferencias entre subregiones de estudio

Determinación de índices de diversidad

$\alpha$

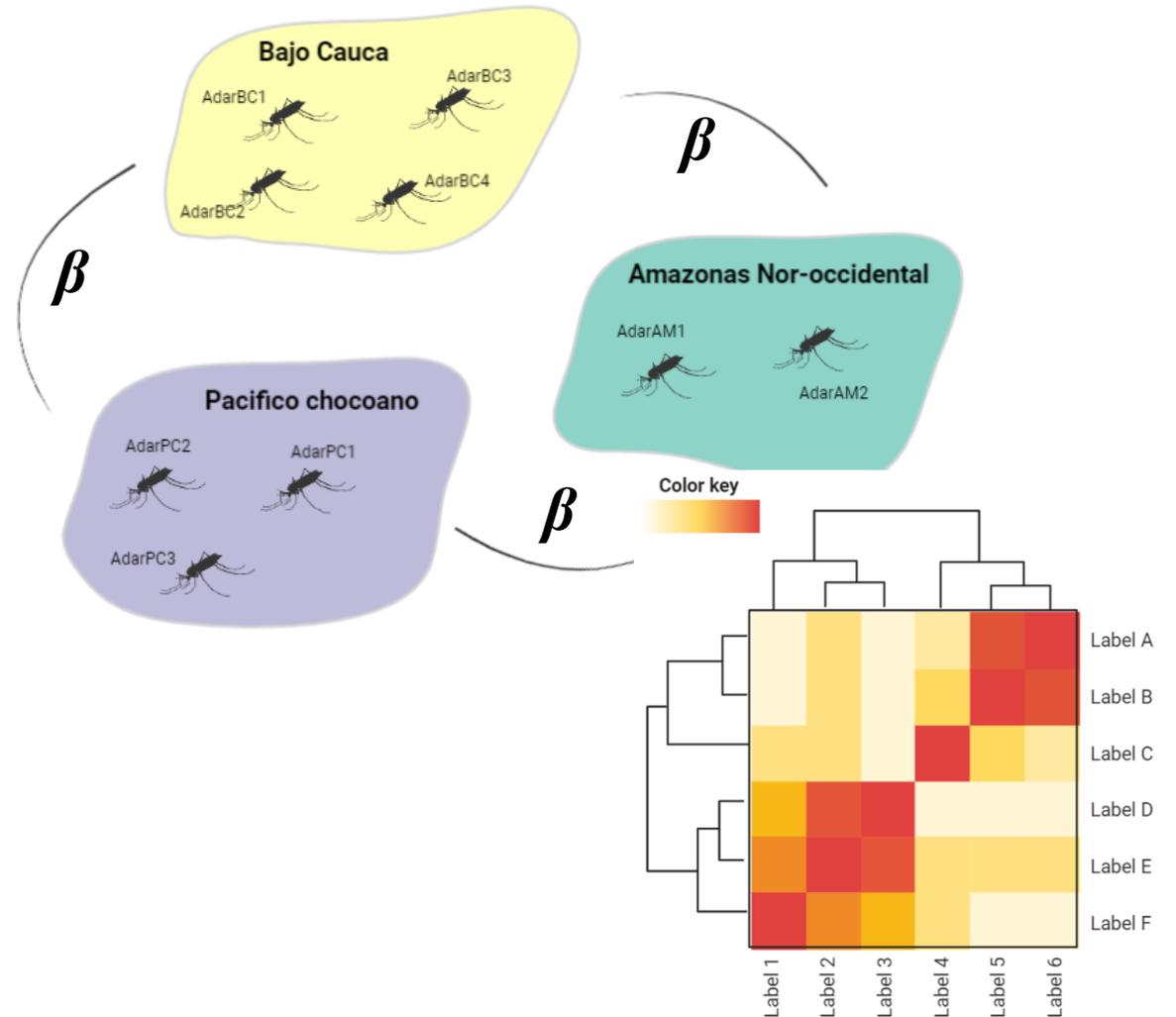
Shannon (H')  
Simpson (1-D)  
Dominancia (D')

$\beta$

Bray-Curtis (BC)

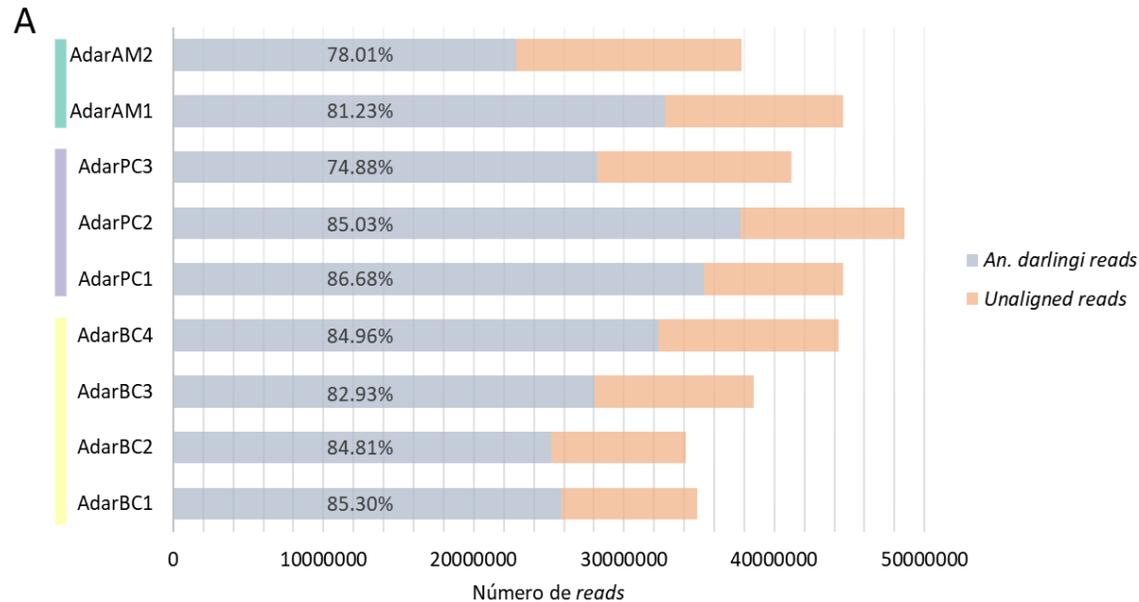
Estadísticos:

ANOSIM  
CPCC  
SIMPER

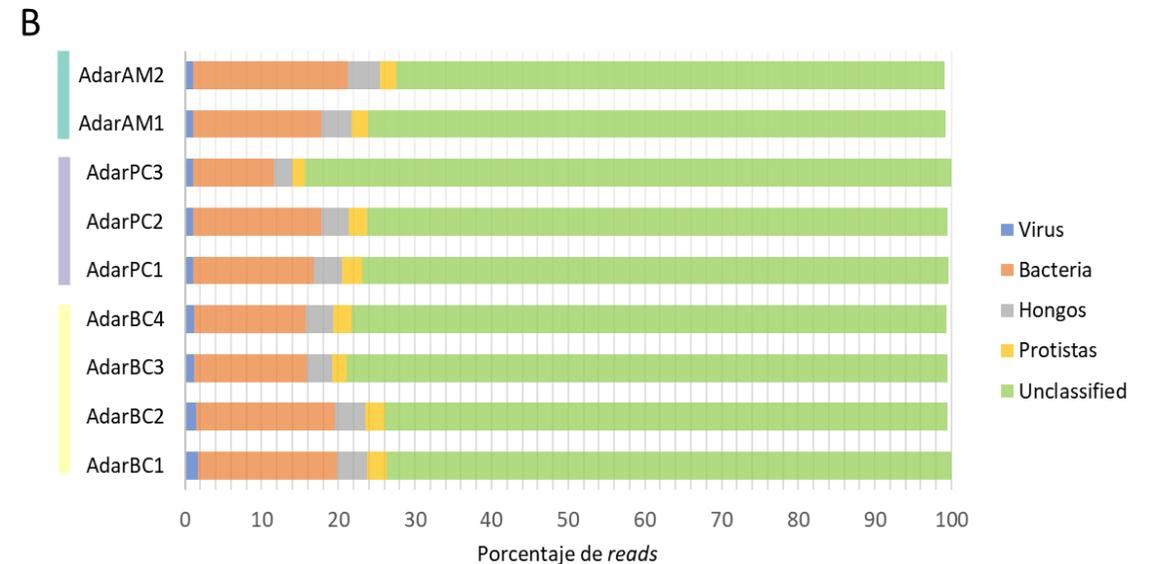


## Distribución de los *reads* secuenciados en el hospedero y su microbiota

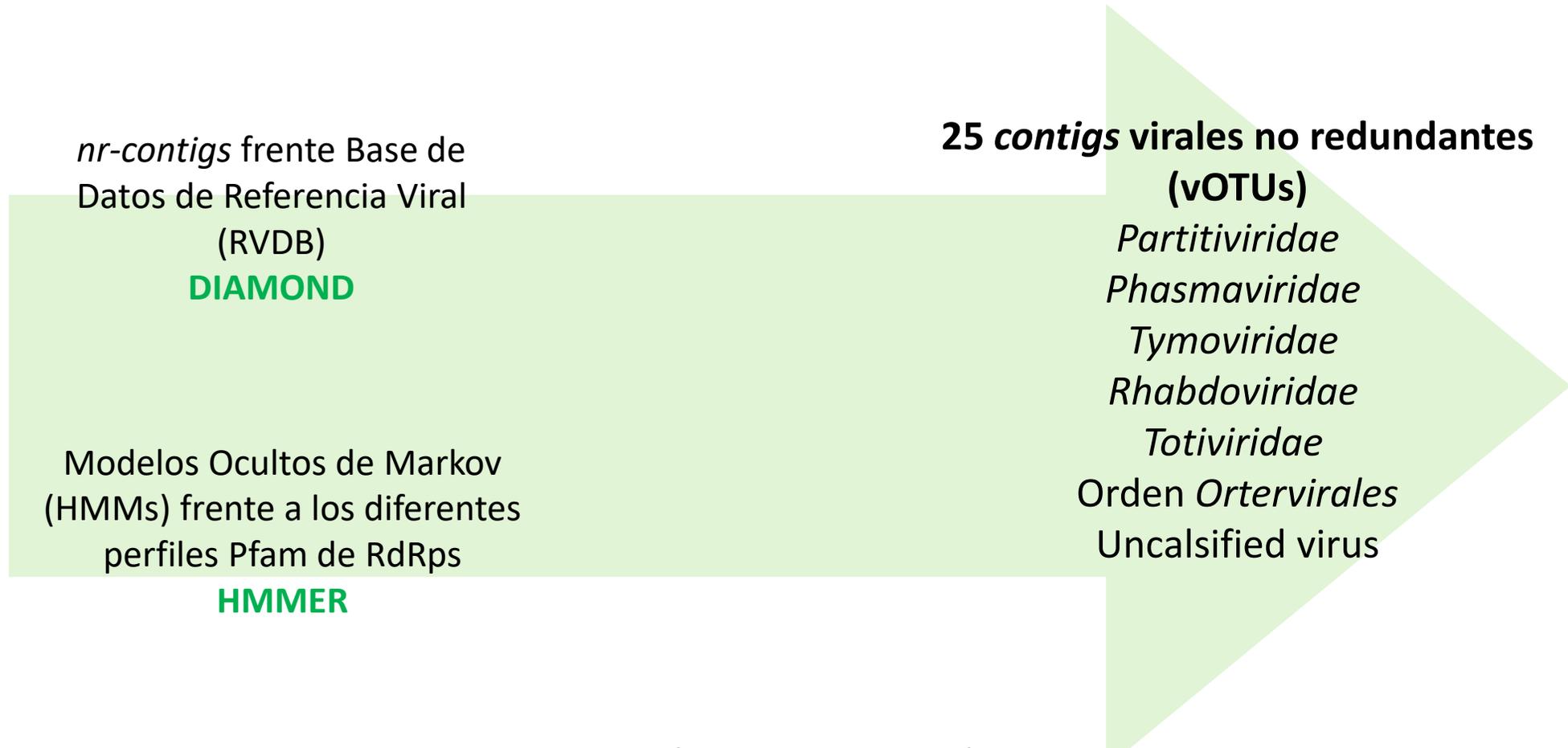
### Reads mapeados al genoma de *An. darlingi*



### Reads no mapeados a *An. darlingi* clasificados como microbianos



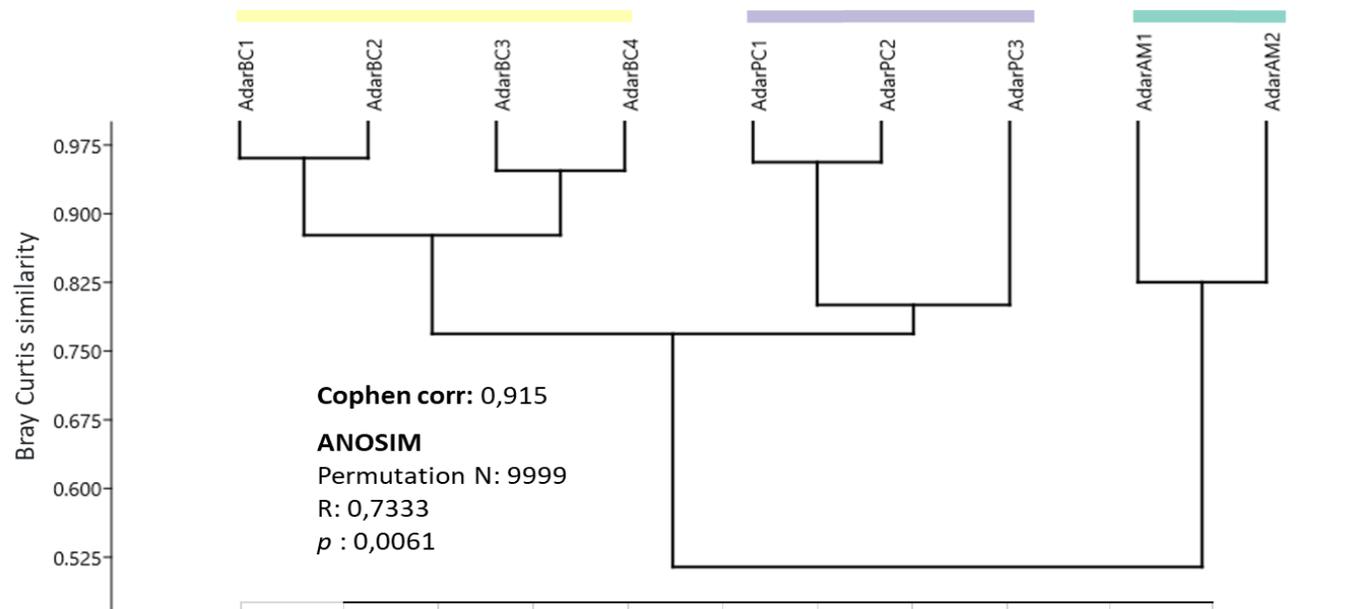
## Secuencias de virus ARN (vOTUs) en poblaciones naturales de *An. darlingi* de Colombia



Entre estos vOTUs no se identificaron arbovirus patógenos conocidos y las secuencias mostraron identidad frente a secuencias de virus relacionadas a virus que han sido detectados previamente en insectos

## Diferencias en la composición de taxones de virus entre diferentes poblaciones de *An. darlingi* de Colombia (análisis basado en *reads*)

Análisis de similitud Bray-Curtis del recuento de *reads* por taxón de virus



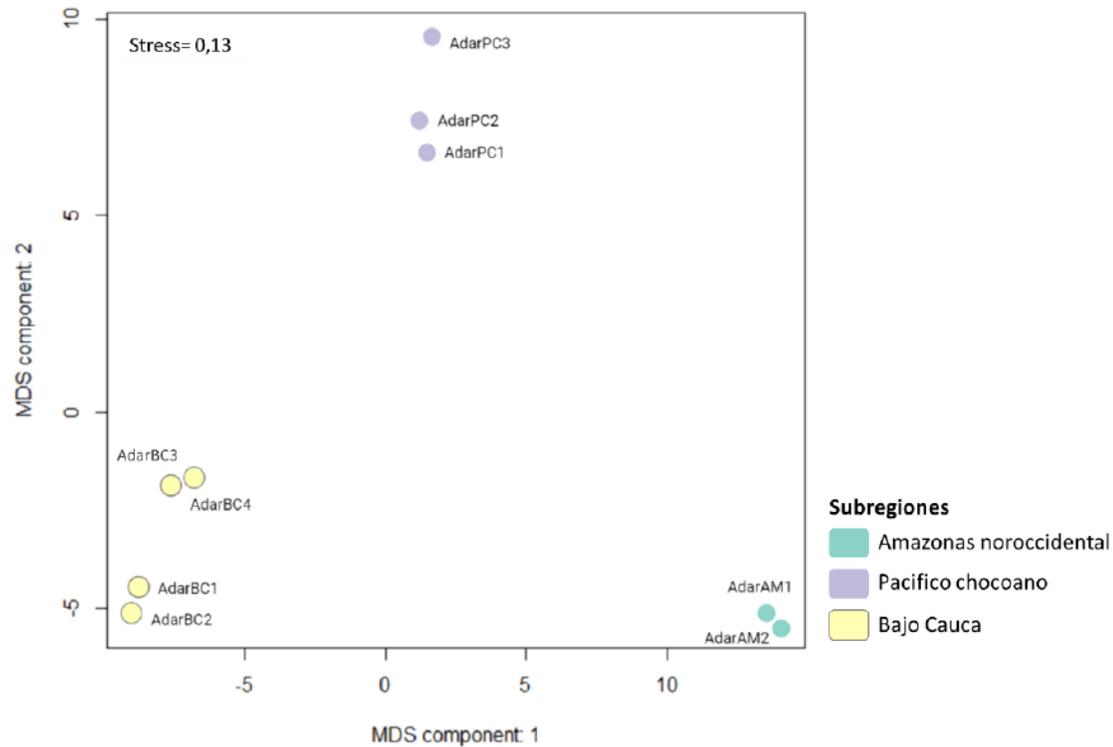
	AdarBC1	AdarBC2	AdarBC3	AdarBC4	AdarPC1	AdarPC2	AdarPC3	AdarAM1	AdarAM2
AdarBC1		0,961	0,864	0,867	0,692	0,664	0,854	0,411	0,467
AdarBC2	0,961		0,890	0,885	0,703	0,682	0,859	0,430	0,498
AdarBC3	0,864	0,890		0,947	0,743	0,732	0,899	0,474	0,466
AdarBC4	0,867	0,885	0,947		0,751	0,725	0,924	0,463	0,466
AdarPC1	0,692	0,703	0,743	0,751		0,956	0,814	0,602	0,632
AdarPC2	0,664	0,682	0,732	0,725	0,956		0,786	0,626	0,650
AdarPC3	0,854	0,859	0,899	0,924	0,814	0,786		0,484	0,529
AdarAM1	0,411	0,430	0,474	0,463	0,602	0,626	0,484		0,825
AdarAM2	0,467	0,498	0,466	0,466	0,632	0,650	0,529	0,825	

Bray-Curtis  
1  
0

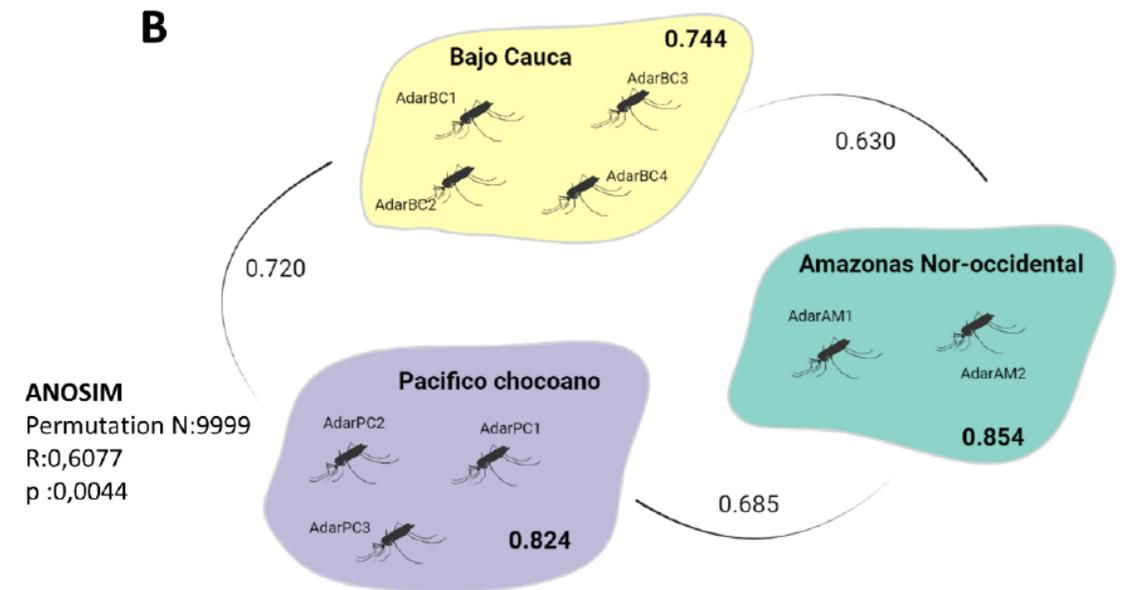
# Resultados

## Diferencias en la composición de vOTUs identificados entre las diferentes poblaciones de *An. darlingi* (análisis basado en *contigs*)

Escalamiento multidimensional no métrico (NMDS)



Similaridad de Bray-Curtis de los vOTUs identificados



# Conclusiones

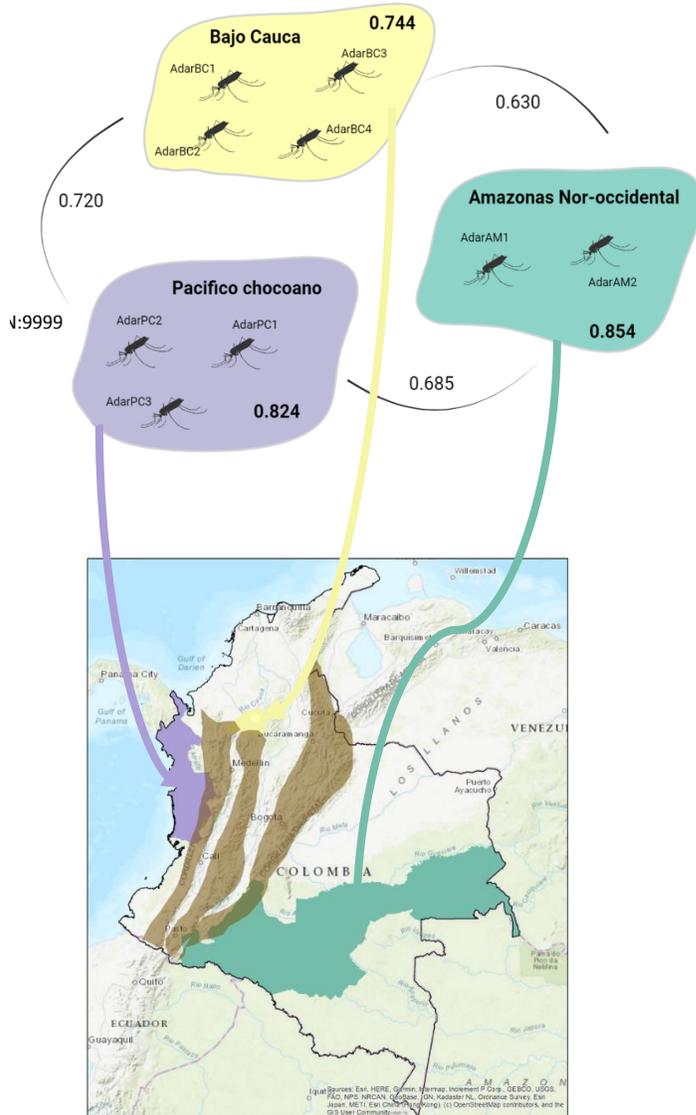


Figura creada con BioRender.com

- *Anopheles darlingi* contiene secuencias de virus ARN que corresponden a virus insecto-específicos
- La estructura del metaviroma de *An. darlingi* tiende a tener una mayor similitud entre las poblaciones cercanas geográficamente
- Este estudio constituye uno de los primeros análisis del componente viral de esta especie en el Neotrópico

# ***Agradecimientos***

Este estudio fue desarrollado en el marco del proyecto con código No 2021-41851 financiado por la Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia

A los integrantes del Grupo de Microbiología Molecular de la Universidad de Antioquia y a los técnicos que apoyaron las salidas de campo en las regiones

A la Unidad de Entomología de la Secretaría de Salud del Departamento del Guaviare

Al Fondo de Movilidad Nacional e Internacional para la Participación en Eventos Científicos del CODI de la Universidad de Antioquia.