

Bioinformática aplicada en Aerobiología: análisis e identificación de polen por secuenciación del ADN

Andrés Núñez Hernández

Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales. Universidad Politécnica de Madrid (ETSII-UPM). Madrid (España)
andres.nunez@upm.es

La identificación microscópica del polen por caracteres morfológicos requiere de una alta formación del personal técnico, así como un largo tiempo de dedicación para realizar las lecturas diarias. Estos factores técnicos unidos al interés por los estudios aerobiológicos, promovido por el incremento de los casos de polinosis de las últimas décadas, han fomentado la búsqueda de alternativas y el desarrollo de estrategias y equipos que permitan automatizar el proceso de identificación y cuantificación del polen y, si es posible, ofrezcan nuevas mejoras como la reducción del tiempo empleado o un aumento del poder de resolución para los grupos crípticos que comparten características morfológicas.

Los sistemas ópticos por reconocimiento de imágenes llevan desarrollándose durante años, con ventajas como la prácticamente completa automatización del proceso y la obtención de resultados casi en tiempo real¹⁻³, pero su implantación sigue siendo muy limitada. Entre los métodos moleculares, la secuenciación del ADN se ha empleado para la caracterización genética de especies de manera aislada, pero recientemente esta tecnología ha permitido el análisis de muestras ambientales complejas, con diferentes especies a la vez, en unos tiempos y costes razonables. Alentados por las grandes aplicaciones de esta técnica (secuenciación masiva del ADN o "*high-throughput sequencing*"), el equipo del Programa AIRBIOTA-CM: Conocer y modelizar la contaminación biológica del aire urbano (<http://airbiota.com>), ha estudiado la aplicación de esta tecnología a los estudios aerobiológicos. Para ello, hemos adaptado el uso del captador volumétrico tipo Hirst para este tipo de análisis moleculares y no sólo para polen, sino para otros componentes de la aerobiota como hongos y bacterias⁴.

En el caso del polen, esta aproximación contempla los siguientes pasos tras la recogida de muestras: 1º) Extracción del ADN; 2º) Amplificación de una región del ADN seleccionada y presente en todas las especies de plantas; 3º) Secuenciación mediante plataformas de secuenciación masiva; y 4º) Análisis bioinformático de las secuencias y emisión de resultados. Se obtiene así un proceso más automatizado que el método tradicional de identificación por microscopía, con ventajas adicionales como examinar toda la muestra (y no una fracción de la misma) o poder analizar varias decenas de muestras a la vez, reduciendo así el tiempo total empleado.

Entre los resultados más destacables obtenidos empleando esta metodología se encuentran el haber identificado más de 100 géneros distintos de plantas (21 pertenecientes a diferentes especies de gramíneas) presentes en una sola muestra semanal de aire urbano; poder distinguir las contribuciones individuales de cada una de ellas (incluyendo aquellas que de manera tradicional se agrupan en tipos polínicos por no poder diferenciarlas por sus caracteres morfológicos); o incluso detectar la presencia de otras entidades biológicas como briófitos o algas verdes (a menudo asociadas formando líquenes). Cuando los estudios se realizan de manera sistemática, permiten detectar la aparición del polen (inicio de la estación polínica) así como la evolución de la contribución de los distintos géneros a lo largo del año y definir de manera global la diversidad de plantas sin necesidad de estudios de campo.

Además, los análisis hasta el momento muestran una buena concordancia de los resultados generados mediante secuenciación del ADN y los obtenidos por la metodología tradicional de identificación microscópica⁴, independientemente del tipo de adhesivo (silicona o vaselina) empleado para la recolección de las muestras⁵, aunque con ciertas divergencias que requieren estudios más detallados.

La implantación de esta tecnología en los estudios aeropalínológicos aún está limitada por diversos factores. No obstante, su gran potencial, la posibilidad de automatización y la rapidez de evolución de los medios técnicos implicados apoyan su incorporación al trabajo de las estaciones aerobiológicas de monitorización.

AGRADECIMIENTOS

A los programas AIRBIOTA-CM [S2013/MAE-2874] y AIRTEC-CM [S2018/EMT-4329] financiados por la Dirección General de Innovación e Investigación de la Comunidad de Madrid.

REFERENCIAS

1. Crouzy B, Stella M, Konzelmann T, et al. Clot B. All-optical automatic pollen identification: Towards an operational system. *Atmos. Environ.* 2016; 14:202-212.
2. Oteros J, Pusch G, Weichenmeier I, et al. Automatic and Online Pollen Monitoring. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2015; 167:158-66.
3. Buters J, Schmidt-Weber C, Oteros J. Next-generation pollen monitoring and dissemination. *Allergy.* 2018; 73(10):1944-5.
4. Núñez A, Amo de Paz G, Ferencova Z, et al. Validation of the Hirst-Type Spore Trap for Simultaneous Monitoring of Prokaryotic and Eukaryotic Biodiversities in Urban Air Samples by Next-Generation Sequencing. *Appl. Environ. Microbiol.* 2017; 83(13):e00472-17.
5. Rojo J, Núñez A, Lara B, et al. Comprehensive analysis of different adhesives in aerobiological sampling using optical microscopy and high-throughput DNA sequencing. *J Environ. Manage.* 2019; 240:441-50.