



**Descripción de comunidades bacterianas en afluentes del río Bogotá
usando un enfoque metagenómico.**

Vanessa del Pilar Urrea Messa

**Universidad del Rosario
Facultad de Ciencias Naturales
Bogotá DC, Colombia
2022**

Descripción de comunidades bacterianas en afluentes del río Bogotá usando un enfoque metagenómico

Vanessa del Pilar Urrea Messa

Tesis presentada como requisito para obtener el título de:

Bióloga

Director

Marina Muñoz (PhD).

Co-director

Juan David Ramírez González (PhD).

**Facultad de Ciencias Naturales
Programa de Biología
Universidad del Rosario
Bogotá D.C, Colombia
2022**

Descripción de comunidades bacterianas en afluentes del río Bogotá usando un enfoque metagenómico

Vanessa Urrea¹, Sergio Castañeda¹, Giovanni Herrera¹, Laura Vega¹, Juan David Ramírez^{1,2} and Marina Muñoz^{1*}

¹ Centro de Investigaciones en Microbiología y Biotecnología -UR (CIMBIUR), Facultad de Ciencias Naturales, Universidad del Rosario, Bogotá, 110221, Colombia

² Molecular Microbiology Laboratory, Department of Pathology, Molecular and Cell-Based Medicine, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, NY 10029, USA

ABSTRACT

Anthropogenic activity has generated a negative impact on aquatic environments and on the organisms that live in them. Therefore, the water quality of the samples taken in the four tributaries of the Bogotá River will be determined by implementing traditional strategies with physicochemical and microbiological analyses. Likewise, the composition of the microbial communities present were described using metagenomic analysis and with these results the presence of molecular markers of interest. Our results showed how the bacterial community dominates in the samples, in addition, the description of the antibiotic resistance markers and virulence factors gives an approximation to how the water is serving as a medium for its propagation. Finally, this study allows generating relevant information on the current status of the sampled points and marking a starting point to continue with future research.

RESUMEN

La actividad antropogénica ha generado un impacto negativo en los ambientes acuáticos y en los organismos que viven en él. Para esto se determinó la calidad del agua de las muestras tomadas en los cuatro afluentes del río Bogotá implementando estrategias tradicionales con pruebas fisicoquímicas y microbiológicas. También, se determinó la composición de las comunidades microbianas presentes por medio de análisis metagenómicos y con estos resultados, se describió la presencia de marcadores moleculares de interés en salud circundantes. Nuestros resultados muestran como la comunidad bacteriana domina en las muestras, adicional, la descripción de los marcadores de resistencia a antibióticos y factores

de virulencia da un acercamiento de cómo el agua está sirviendo como medio para la propagación de estos. Finalmente, este estudio permite generar información relevante acerca del estado actual de los puntos muestreados y marca un punto de inicio para continuar con próximas investigaciones.

Key words

Water quality, Metagenomics, Molecular markers, Pollution

Palabras clave

Calidad agua, Metagenómica, Marcadores moleculares, Contaminación

1. INTRODUCCIÓN

El río Bogotá es uno de los principales ríos de Colombia, contando con una longitud de 347 kilómetros y un área de 589.143 hectáreas. Su importancia se debe a que cerca al afluente se desarrollan actividades socioeconómicas que representan el 28% a nivel nacional (Rodríguez Forero *et al.*, 2009; Secretaría Distrital de Planificación de Bogotá, 2014; CAR, 2018). Estas actividades producen descargas de aguas residuales equivalentes a 25.185 toneladas por año con un fuerte impacto en la calidad de los alimentos, las actividades pesqueras y la salud humana (Hernández-De Lira *et al.*, 2014). Este río nace en el Páramo de Guacheneque y desemboca en el río Magdalena (Díaz-Martínez & Granada-Torres, 2018). Además, su calidad se ve afectada a medida que aumenta su cercanía a las áreas urbanas de la ciudad, debido a las actividades inducidas por el hombre que generan desechos industriales, agrícolas y domésticos (Meneses-Campo *et al.*, 2019). A este río desembocan cuatro afluentes principales: los ríos Arzobispo, Fucha, Tunjuelo y Soacha, los cuales, al atravesar la ciudad de Bogotá, reciben el impacto antrópico de aproximadamente el 20% de la población colombiana que vive en la capital (Fernández *et al.*, 2015).

El agua tanto del río Bogotá como de sus afluentes se utiliza en una amplia gama de actividades, como la agricultura, ganadería e incluso actividades domésticas (Ruiz-Moreno *et al.*, 2019; Henao-Herreño *et al.*, 2017). Cuando se presenta la contaminación en estos cuerpos hídricos, además de afectar la calidad del agua y las actividades económicas desarrolladas cerca a estos, representan una amenaza para la salud y una alta incidencia de

enfermedades en humanos y animales (Alqahtani *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2022). Es necesario determinar la calidad del agua mediante estrategias tradicionales, pero es pertinente mejorar las estrategias para caracterizar la diversidad microbiana en las aguas residuales del área de Bogotá. La estrategia de Amplicon-based sequencing se implementó inicialmente en el Grupo de Investigaciones en Microbiología de la Universidad del Rosario (GIMUR) para la caracterización de cuerpos de agua ya que este enfoque analiza el gen 16S rRNA (Vega *et al.*, 2021), un marcador filogenético que permite la diferenciación y asignación taxonómica de las diferentes bacterias que están presentes en muestras ambientales (Moreno-Mesonero *et al.*, 2020). Sin embargo, la metagenómica se considera un enfoque más completo para analizar el componente microbiológico de los ecosistemas acuáticos a través del análisis de su ADN (Staley & Sadowsky, 2016; Riesenfeld *et al.*, 2004), permitiendo así una asignación taxonómica, no solo de bacterias, sino también de eucariotas, microorganismos que no son cultivables o tienen poca abundancia (Illumina, 2015).

Teniendo en cuenta que se han encontrado organismos resistentes a los antibióticos en aguas ambientales como los ríos (Kaiser *et al.*, 2022), es necesario detectarlos, ya que se ha reportado que el medio acuático es un reservorio que ayuda a la transferencia de estos a humanos y animales, a través de la cadena de uso y consumo de agua (Yu *et al.*, 2022). Además de esto, no solo se han encontrado bacterias resistentes a antibióticos, sino también se han encontrado en éstas, factores de virulencia que aumentan el potencial de causar enfermedades (Mao *et al.*, 2021). En este contexto, el objetivo de este estudio fue evaluar el estado actual de la calidad del agua, determinar la composición de las comunidades microbianas y describir la presencia de marcadores moleculares circundantes en los afluentes de los ríos Fucha, Tunjuelo, Arzobispo y Soacha. Los aportes de esta investigación permitirán generar información básica sobre la calidad del agua y la composición de las comunidades microbianas como aporte al diseño de estrategias para el control y tratamiento de los cuerpos de agua en Bogotá.

2. MÉTODOS

2.1 Recolección de muestras

Se tomaron siete muestras simples de los cuatro afluentes del río Bogotá entre el 26 de octubre y el 5 de noviembre de 2021. Las muestras se colectaron a una profundidad de 30 cm en el tramo inicial y en el tramo final de cada río, a excepción del río Soacha, debido al difícil acceso (Figura 1, S1). Esto fue posible con la ayuda de un montaje estéril que permitió el acceso al río desde puentes peatonales y vehiculares (S2). Una ficha de colección de datos fue designada en el momento del muestreo con información de fecha, hora, coordenadas y observaciones adicionales. Las muestras se transportaron a 4°C en una nevera de poliestireno y se procesaron el mismo día de la recolección hasta la extracción de ADN para así obtener óptimos resultados (Joseph *et al.*, 2019).

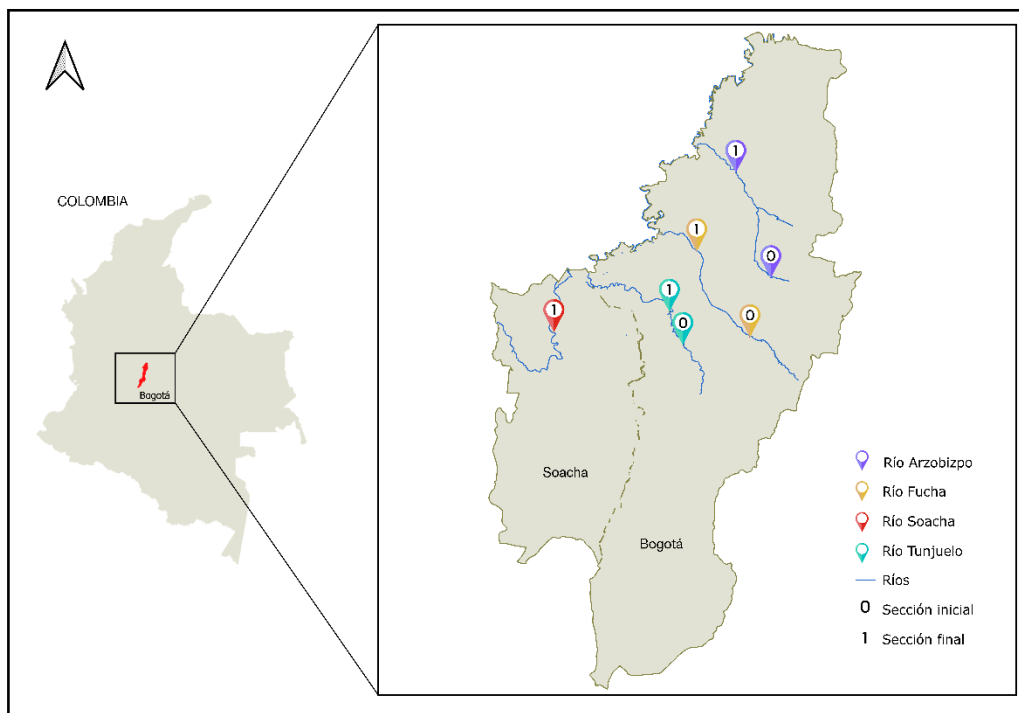


Figura 1. Mapa de los sitios de colecta de las muestras de agua en los cuatro afluentes del río Bogotá.

2.2 Evaluación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos utilizando enfoques tradicionales

Las propiedades fisicoquímicas, tales como acidez, alcalinidad, dureza total y oxígeno disuelto, se determinaron *In situ* de acuerdo con las instrucciones del kit "Alforja Carolina®

Water Quality". Así mismo, se consideraron propiedades organolépticas como color y olor. Adicionalmente, se realizaron mediciones de concentración de O₂, CO₂ y pH en el laboratorio usando un LabQuest - Vernier.

La calidad microbiológica del agua se determinó mediante la implementación de pruebas tradicionales, para esto, se realizó una dilución seriada de 10⁰ a 10⁻³ (Resolución 2115 del 2007). Inmediatamente después se realizó una siembra masiva en agar nutritivo + cloruro de tetrazolio (5%) y agar MacConkey. Posteriormente, se incubó durante 48 horas a 37 °C y se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC). Todos estos parámetros evaluados son importantes para determinar la calidad del agua teniendo en cuenta la normatividad colombiana bajo la Resolución 2115 de 2007.

2.3 Extracción de ADN y secuenciación metagenómica

Se realizaron dos filtraciones al vacío de 200 mL para cada una de las muestras con membranas de nitrato de celulosa de 0,45 µm. La muestra filtrada se vuelve a procesar con membranas de nitrato de celulosa de 0,2 µm para incluir microorganismos más pequeños. Luego, las membranas se almacenaron en un tubo Falcon estéril de 50 mL en el que se recuperó la biomasa por extracción mecánica (S3); posteriormente, se centrifugó. El protocolo de extracción de ADN se realizó con el kit Qiagen DNeasy PowerLyzer Power Soil y se almacenó a -30 °C (Posada-Perlaza *et al.*, 2019). La presencia de *Giardia spp.* y *Cryptosporidium spp.* se determinó a partir del ADN extraído mediante la prueba de PCR tradicional, siguiendo la metodología previamente reportada (Vega *et al.*, 2021).

La cantidad y la integridad del ADN extraído se verificó utilizando NanoDrop y electroforesis, respectivamente. Las muestras se concentraron y se enviaron un promedio de 43 ng/µL de ADN por muestra a la empresa Novogene para realizar la secuenciación tipo Shotgun metagenomics utilizando la plataforma Illumina NovaSeq Paired-End con una longitud de lectura de 150 pb hasta alcanzar una cantidad mínima de datos crudos por muestra de 2 Gb.

2.4 Análisis de datos

La calidad de las lecturas sin procesar se verificó a través de FastQC, luego se recortaron con Trimmomatic con un umbral de calidad de 20 y una longitud mínima de 150 pb. Una vez se obtuvieron las lecturas limpias, se realizó la asignación taxonómica usando Centrifuge (Kim *et al.*, 2016.) y Kraken2 (Wood *et al.*, 2019), mientras que el perfilamiento taxonómico se realizó usando Methaphlan0.2 (Beghini *et al.*, 2021). Los resultados se visualizaron utilizando Pavian (Breitwieser & Salzberg, 2020) y RStudio. Adicionalmente, con el software Resistance Gene Identifier (RGI) (Alcock *et al.*, 2020) se analizaron los marcadores moleculares de interés en salud, principalmente aquellos relacionados con resistencia a antibióticos. Por otro lado, se identificaron los factores de virulencia a través de la base de datos de factores de virulencia (VFDB) (Chen *et al.*, 2016) en el que se seleccionaron las toxinas como factor de virulencia a revisar, para posteriormente determinar la frecuencia de observación de estas en las muestras.

Los ensamblajes a partir de metagenomas (MAG) se obtuvieron con MetaSpades y el agrupamiento se realizó a través de MetaBAT, Maxbin y Concoct. Posteriormente, se realizó un refinamiento de los Bins con DASTool y se determinó la calidad de estos Bins en CheckM. La asignación taxonómica se realizó con GTDB-Tk (Chaumeil *et al.*, 2020). Finalmente, se eligieron los MAGS considerando los estándares de Bowser *et al.*, (2017). Los borradores MAG de alta calidad tenían más del 90 % de integridad y menos del 5 % de contaminación. Asimismo, los borradores MAG de calidad media estaban por encima del 50% de integridad y menos del 10% de contaminación.

3. RESULTADOS

3.1 Calidad del agua a partir del análisis tradicional

El perfil fisicoquímico indicó altos niveles de acidez, dureza y alcalinidad en la mayoría de las muestras de los tramos finales de los ríos en comparación con los tramos iniciales (Tabla 1). Por el contrario, la muestra RT1 mostró valores similares a la muestra RT0 en dureza y alcalinidad. El pH de todas las muestras se mantuvo en un rango entre 5,83 y 6,48. El porcentaje de oxígeno se mantuvo en valores similares entre cada una de estas muestras (~10,4%), a excepción de la muestra RF0, que obtuvo un valor de 4,17%. A su vez, esta

muestra fue la que presentó mayor concentración de CO₂ con un valor de 835 ppm en comparación con las demás muestras que se encontraban en un rango entre 414 y 712 ppm.

Tabla 1. Medición de los parámetros fisicoquímicos con enfoques tradicionales

| Río | Sección | Temperatura agua | Temperatura ambiental | pH | Alcalinidad* | Acidez* | Dureza* | O ₂ disuelto (ppm) | %O ₂ (ppm) | CO ₂ (ppm) |
|-----|---------|---------------------|--------------------------|------|--------------|---------|---------|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| RF | 0 | 16.3°C | 18°C | 6.84 | 20 | 16 | 0 | 9 | 4.17% | 835 |
| RF | 1 | 15.7°C | 15°C | 6.00 | 50 | 16 | 30 | 11 | 10.14% | 414 |
| RA | 0 | 13.8°C | 12°C | 6.20 | 40 | 10 | 30 | 9 | 10.89% | 712 |
| RA | 1 | 18.1°C | 18°C | 6.22 | 110 | 58 | 30 | 6 | 10.09% | 463 |
| RT | 0 | 14°C | 9°C | 6.48 | 60 | 30 | 20 | 4 | 10.15% | 520 |
| RT | 1 | 14°C | 10°C | 5.83 | 60 | 34 | 0 | 9 | 10.04% | 486 |
| RS | 1 | 11°C | 8°C | 6.80 | 130 | 52 | 70 | 7 | 10.07% | 529 |

*CaCO₃ (ppm)

RF: Río Fucha, RA: Río Arzobispo, RT: Río Tunjuelo, RS: Río Soacha

0: Sección inicial

1: Sección final

El recuento de UFC - Estimación que se basa en el número de colonias identificables en el agar posterior al tiempo de siembra e incubación (Gronewold & Wolpert, 2008) muestra cómo se obtuvo un mayor número de colonias en agar MacConkey que en agar nutritivo + TTC, excepto para la muestra RF0. Las colonias que crecieron en agar nutritivo + TTC mostraron un color rojo oscuro, lo que indica colonias aeróbicas. Por otro lado, se observaron colonias translúcidas de color rosa y blanco en agar MacConkey, lo que indica bacterias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa, respectivamente. Teniendo en cuenta la Resolución 2115 de 2007, todos los ríos, en cualquiera de los tramos, superan el nivel máximo permitido, con valores superiores a 350 UFC/100 µL (Tabla 2).

Tabla 2. Estimación de parámetros microbiológicos medidos con enfoques tradicionales

| Río | Sección | Agar nutritivo + TTC | Agar MacConkey |
|-----|---------|-------------------------|-------------------------|
| | | 10 ² /100 uL | 10 ² /100 uL |
| | | UFC | UFC |
| RF | 0 | 0 | 0 |
| RF | 1 | 232,000 | 109,500 |
| RA | 0 | 100 | 0 |
| RA | 1 | 912,500 | 412,500 |
| RT | 0 | 2,800 | 1,000 |
| RT | 1 | 1,200 | 2,400 |
| RS | 1 | 552,000 | 120,000 |

*UFC - Unidades Formadoras de Colonia

Finalmente, se detectó la presencia de *Giardia spp.* y *Cryptosporidium spp* según lo establecido en la Resolución 2115 de 2007. Se encontró la presencia de estos parásitos en todas las muestras a excepción de RF0 en la que no se encontraron presentes estos mediante detección por PCR.

3.2 Comunidades bacterianas: abundancia de especies presentes en las muestras de los afluentes

Se recuperó en promedio el 99.69% de las lecturas de alta calidad después del filtrado y recorte de calidad. Para la asignación taxonómica se decidió seguir trabajando con la herramienta Centrifuge, ya que tuvo un mayor porcentaje en cuanto a la clasificación de las lecturas, incluyendo el 100% de asignación taxonómica de tres muestras, en comparación con la herramienta Kraken2 en la que su mayor porcentaje de clasificación taxonómica fue del 61,6%. La clasificación taxonómica, según el análisis, mostró que está constituida en su mayoría por lecturas microbianas en las que un gran porcentaje fueron asignadas a bacterias con un promedio del 97,5% del total de lecturas clasificadas que representan un total de 4.823 bacterias. Los virus representaron el 0,1% del total de lecturas.

Finalmente, no se encontraron lecturas pertenecientes a eucariotas. Esto, puede deberse a su baja abundancia, ya que con la cantidad de datos secuenciados (2 GB), la mayoría de estos, correspondieron a aquellos microorganismos más abundantes, en este caso las bacterias. Es por esto, que se logró detectar *Giardia spp.* y *Cryptosporidium spp.* mediante la PCR, técnica dirigida a amplificar un fragmento específico.

Respecto a la abundancia de bacterias obtenidas por secuenciación, se puede observar como la especie *Dechloromonas aromatica* domina las muestras del río Tunjuelo en ambos tramos. Por otro lado, descriptivamente, se puede observar cómo hay una mayor presencia de *Acinetobacter johnsonii* y *Aeromonas hydrophila* en todas las muestras correspondientes a los tramos finales, en comparación con los iniciales. Para las demás bacterias, se puede observar una abundancia similar entre las muestras inicial y final (Figura 2).

Por otro lado, las muestras correspondientes a los ríos Arzobispo y Tunjuelo (Figura 2A, C) tienen una composición similar, con predominio de especies como *Aeromonas hydrophila* y *Acinetobacter media*. Se puede destacar como en la muestra RA hay un cambio entre la

sección inicial y final, ya que esta última mostró un incremento en las especies *Tolunomas auensis* y *A. hydrophila*, así como una disminución en *Polaromonas naphthalenivorans*. Con respecto a la muestra RF (Figura 2B), la sección final mostró un aumento en *A. johnsonii* y *A. hydrophila*. Finalmente, en la muestra del río Soacha (Figura 2D) se encontraron descriptivamente en iguales proporciones las especies *A. hydrophila*, *A. media* y *D. aromatica*.

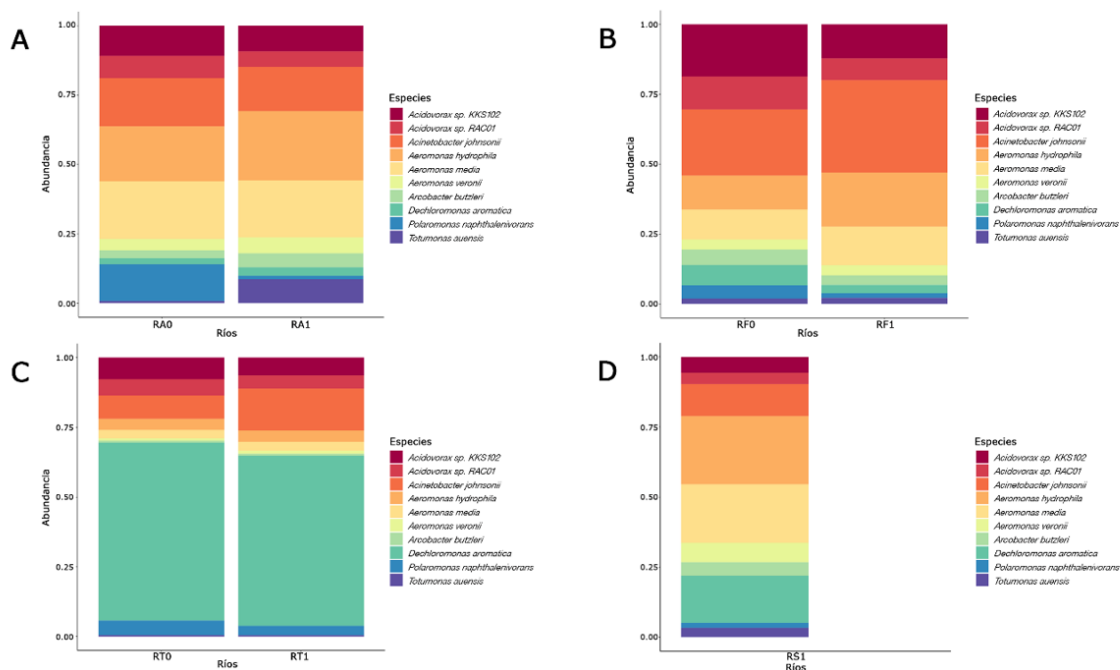


Figura 2. Abundancia relativa de las 10 especies bacterianas más abundantes. **A.** Río Arzobispo sección inicial y final. **B.** Río Fucha sección inicial y final. **C.** Río Tunjuelo sección inicial y final. **D.** Río Soacha sección final.

* RF: Río Fucha, RA: Río Arzobispo, RT: Río Tunjuelo, RS: Río Soacha, 0: Sección inicial, 1: Sección final

Se seleccionaron las 10 especies de bacterias con mayor abundancia relativa y se identificaron sus potenciales asociaciones a la biorremediación. La especie *Acidovorax sp. KKS102* y *D. aromatica* fueron las más abundantes entre las muestras. En la muestra RA0 la especie *P. naphthalenivorans* fue la dominante, pero hubo una reducción de su presencia hacia RA1, en contraste con un aumento de *Rhodoferrax ferrireducens*. Finalmente, en las muestras RT y RS sigue predominando la especie *D. aromatica* (Figura 3A).

En cuanto a la revisión de las 10 especies de bacterias patógenas más abundantes, se encuentra que las especies *Aeromonas hydrophila* y *Acinetobacter johnsonii* son las más

dominantes a nivel general entre todas las muestras. La última especie es la más dominante en los tramos finales, excepto RA1, ya que fue más abundante en la muestra inicial de este río (Figura 3B). Los resultados tanto de la asignación taxonómica como del perfilamiento taxonómico con Methaphlan0.2 muestran una composición bacteriana similar en las muestras de agua.

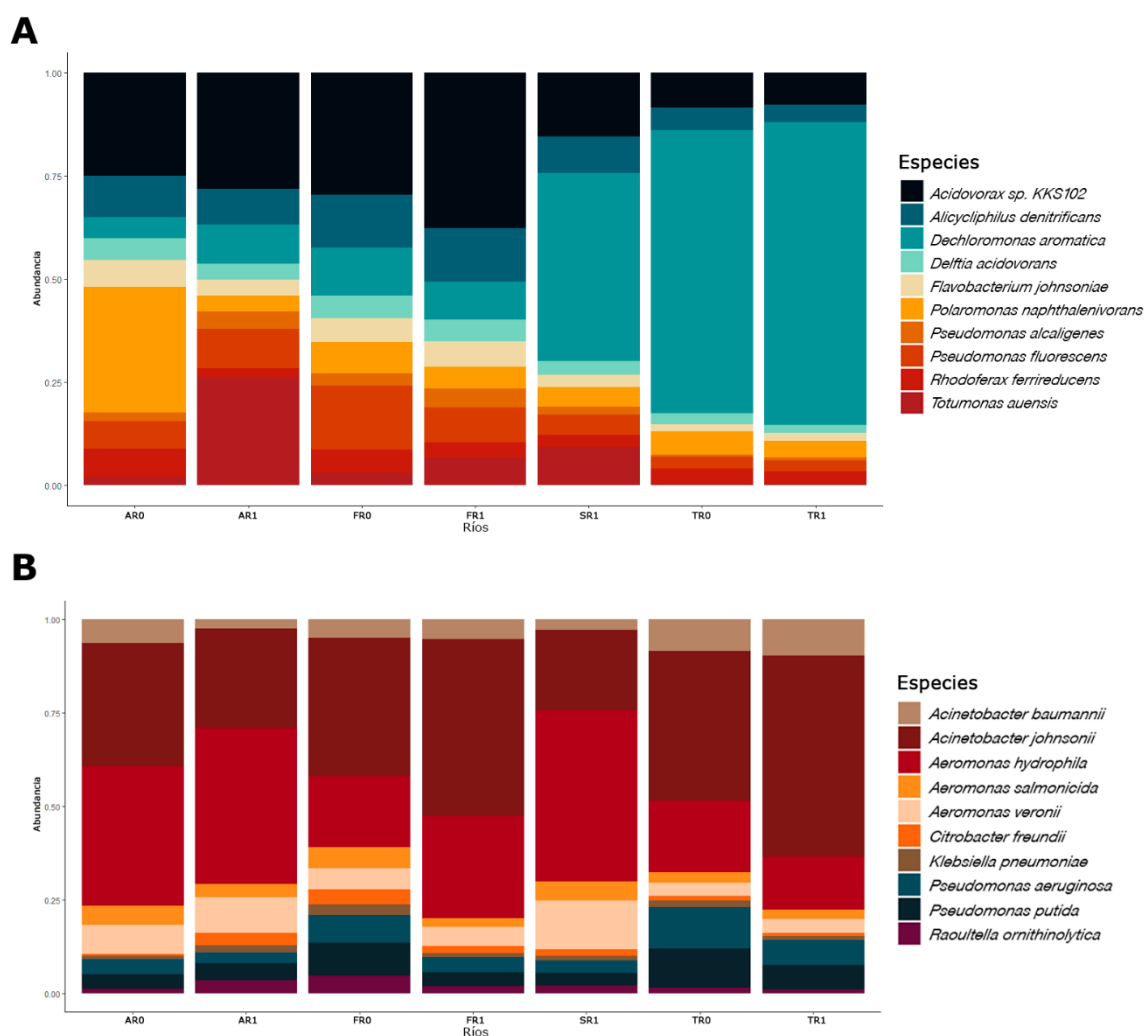


Figura 3. A. Abundancia relativa de las 10 bacterias de biorremediación más abundantes **B.** Abundancia relativa de las 10 bacterias patógenas más abundantes.

* RF: Río Fucha, RA: Río Arzobispo, RT: Río Tunjuelo, RS: Río Soacha, 0: Sección inicial, 1: Sección final

3.3 Comunidad bacteriana: marcadores moleculares de interés en salud

Se encontraron 12 marcadores moleculares asociados con resistencia antibiótica (MMRA) en las siete muestras de los ríos, en las que *adeF* dominó en todas las muestras. Al comparar las muestras de los ríos entre tramos se observa una composición muy similar entre todos ellos. Solo se encontró *tetO* en la muestra RF0. Por otro lado, *APH(3'')*-Ib solo se encontró en las muestras RA1 y RF1. La presencia de *MuxB* disminuyó hacia las secciones finales (Figura 4A).

Estos MMRA se encontraron en cromosomas o plásmidos/cromosomas, como en el caso de *sul1*, *msrE* y *adeF* (Figura 4B). También se encontró que la clase de fármaco más frecuente fue el de los antibióticos macrólidos y los marcadores de resistencia encontrados fueron la salida de antibióticos, la inactivación de antibióticos, la protección de la diana del antibiótico y el reemplazo de la diana del antibiótico con base en RGI (S4).

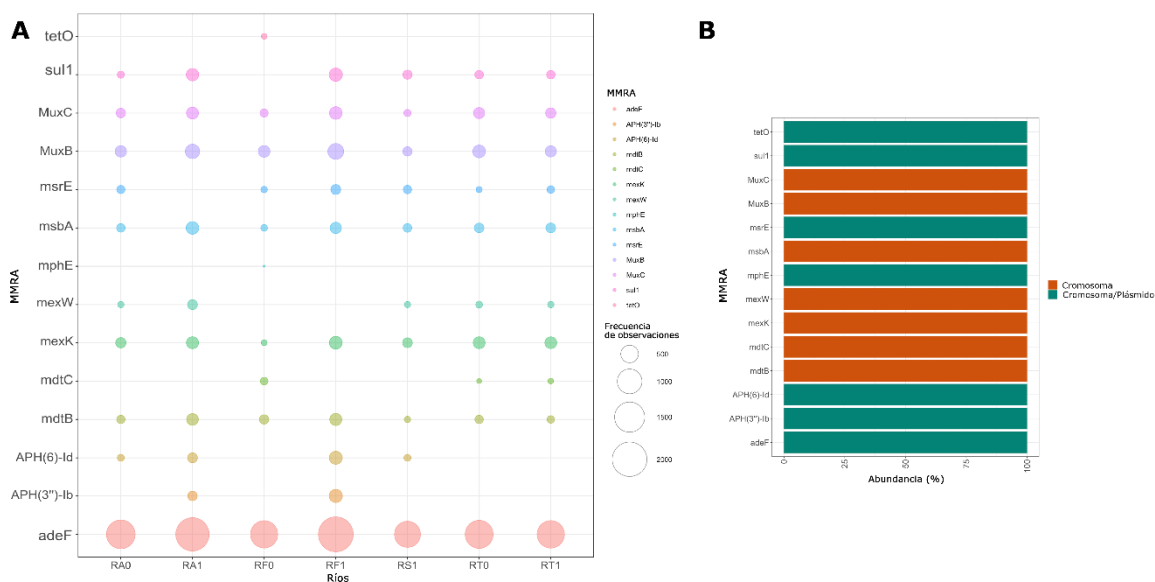


Figura 4. A. Abundancia relativa de las MMRA más abundantes **B.** Distribución de las AROs en elementos genéticos móviles.

* RF: Río Fucha, RA: Río Arzobispo, RT: Río Tunjuelo, RS: Río Soacha, 0: Sección inicial, 1: Sección final, MMRA: Marcadores moleculares asociados con resistencia antibiótica.

Por otro lado, se realizó un filtrado de los resultados de VFDB en el que se seleccionaron, de entre las toxinas, aquellas que estaban por encima del 95% de identidad. La toxina más frecuente fue la del operón RTX para *Aeromonas hydrophila*, en la que predominaron los

genes RtxA y RtxB. Factores de virulencia como toxinas para *A. hydrophila* se encontraron asociados a todas las muestras tomadas, principalmente en AR1 (Figura 5).

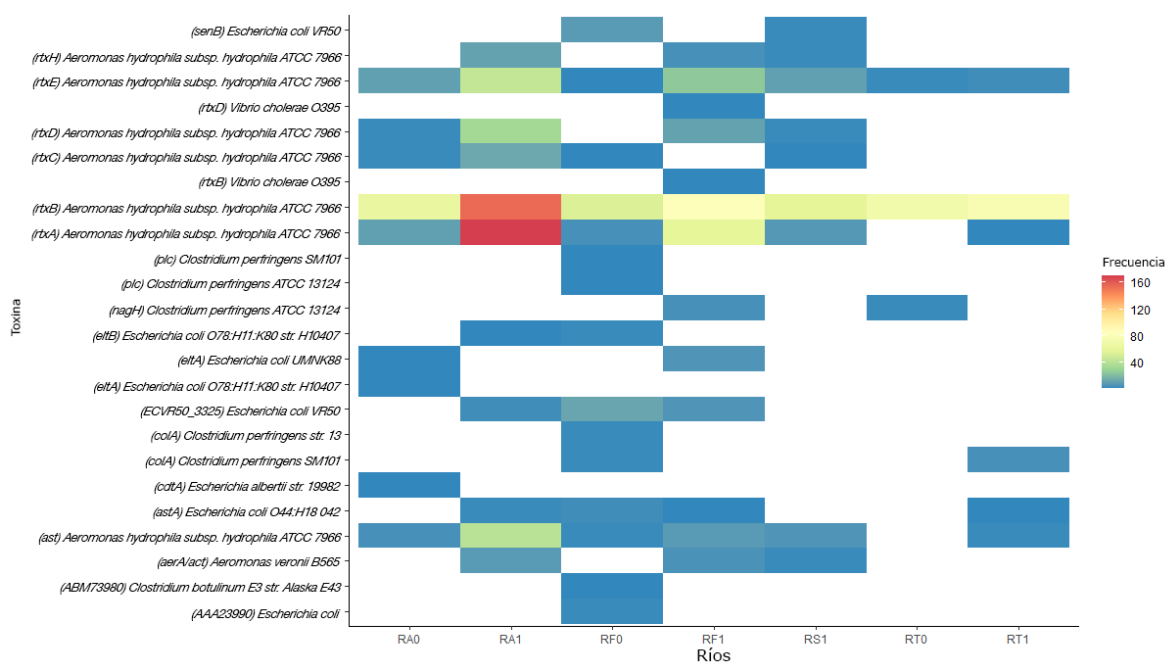


Figura 5 - Mapa de calor de frecuencia de observaciones de los factores de virulencia – toxinas encontradas en las muestras de agua de los afluentes del río Bogotá.

*RF: Río Fucha, RA: Río Arzobispo, RT: Río Tunjuelo, RS: Río Soacha, 0: Sección inicial, 1: Sección final

3.4 Genomas ensamblados en metagenoma - MAGs

Adicionalmente, se obtuvieron 8 borradores-MAG de alta calidad pertenecientes al dominio Bacteria. De estos 8 borradores 4 se clasificaron taxonómicamente hasta género y los 4 restantes, se clasificaron hasta especie, encontrando microorganismos como *Aliarcobacter cryaerophilus* y *Acinetobacter johnsonii*. También, se obtuvieron 13 borradores-MAG de calidad media, todos clasificados taxonómicamente en el dominio Bacteria, 5 de estos MAGs clasificados hasta el nivel de especie como lo son *Aliarcobacter cryaerophilus* y *Acinetobacter johnsonii*, mismas bacterias encontradas en los borradores-MAG de alta calidad. Estos resultados, son de utilidad para una futura anotación del genoma y una asignación funcional; esto permitiendo la comprensión completa de estos genomas ensamblados a partir de metagenomas de las especies encontradas.

4. DISCUSIÓN

Debido a múltiples actividades antrópicas, la contaminación se dispersa en las aguas superficiales, generando cambios en las propiedades fisicoquímicas y la composición microbiana de estos cuerpos de agua (Ho *et al.*, 2021). Las bajas concentraciones de Oxígeno disuelto (OD) pueden indicar estrés ambiental y eutrofización (Omer, 2019), lo que sugiere contaminación principalmente por el uso de fertilizantes químicos en el sector agrícola y en menor medida a contaminación por aguas residuales domésticas e industriales (Xu *et al.*, 2022). La temperatura puede intervenir en los procesos de crecimiento y actividad biológica (Adeyemi *et al.*, 2022). Así mismo, a mayor temperatura se genera una menor concentración de OD (Gualdrón Durán, 2016; Fierro Ortiz & Caballero Rodríguez, 2015).

Según la Resolución 1207 de 2014, que adopta disposiciones relacionadas con el uso de aguas residuales tratadas, el valor límite máximo permisible de pH entre 6,0 – 9,0 permite la implementación de agua para la agricultura, excluyendo el riego de alimentos para consumo humano. Por otro lado, la alcalinidad mide la capacidad amortiguadora del agua (Gorde & Jadhav, 2013). Cuando este valor es alto, puede indicar contaminación química e industrial. En cambio, los valores altos de acidez se relacionan con la contaminación del agua de uso doméstico (Omer, 2019). En general, en todos los ríos el tramo más contaminado fue el final, que presentó valores más altos en los parámetros fisicoquímicos en comparación con los tramos iniciales, lo que sugiere la disminución de la calidad del agua y el aumento de la contaminación al atravesar la ciudad y acercarse a su desembocadura en el río Bogotá.

Además, encontrar la presencia de *Giardia spp* y *Cryptosporidium spp* en la mayoría de las muestras representa un riesgo, ya que estos cuerpos de agua son utilizados para diversas actividades, entre ellas el riego de alimentos. Lo que causa contaminación con quistes infecciosos (*Giardia spp*) y ooquistes (*Cryptosporidium spp*) que luego serán consumidos por animales y humanos (Ngobeni *et al.*, 2022). Ambos parásitos protozoarios representan una alerta de salud pública, ya que han sido responsables de múltiples brotes transmitidos por el agua en países en desarrollo y desarrollados (Rosado-García *et al.*, 2017).

Además, determinar la presencia de coliformes totales y fecales indica contaminación del agua (Vasconcellos *et al.*, 2022). La presencia de coliformes en altas concentraciones está

relacionada con enfermedades que se transmiten a través de este medio (Moshi *et al.*, 2022). Si los cuerpos de agua presentan contaminación microbiana, puede representar una alerta ya que se estima que las enfermedades diarreicas son en su mayoría resultado del agua contaminada (Adeyemi *et al.*, 2022). Además, no solo se han reportado enfermedades gastrointestinales, sino también oculares, cutáneas, respiratorias y auditivas debido al contacto directo o al consumo de agua contaminada (Li *et al.*; 2022).

De la misma manera, la composición microbiana de las muestras de RT en el tramo final muestra una mayor abundancia de *A. johnsonii* y una disminución de *D. aromatica*, lo que puede indicar que las tasas de contaminación difieren entre el tramo inicial y final de los afluentes. Ya que *Dechloromonas aromatica* es una bacteria anaeróbica facultativa de la clase Betaproteobacteria (Han *et al.*, 2021). Este microorganismo es relevante ya que cuando fue aislado se percibió su capacidad para degradar anaeróbicamente el clorobenzoato (Salinero *et al.*, 2009, Huang *et al.*, 2020). La especie *Dechloromonas spp.* destaca por ser un microorganismo desnitrificante común en lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales (Huang *et al.*, 2020) y su presencia ha sido reportada en muchos cuerpos de agua, dominando aquellos de agua dulce (Zhang *et al.*, 2022).

Acinetobacter johnsonii es un bacilo gramnegativo (Jia *et al.*, 2022). Se distribuye ampliamente en aguas dulces como ríos y lagos; asimismo, se ha reportado su presencia en sistemas de distribución de agua potable (van Bel *et al.*, 2020). Se ha reportado la presencia de esta especie en cuerpos de agua contaminados y con presencia de antibióticos en el ambiente. Los contaminantes podrían estar generando una presión selectiva sobre esta bacteria (Jia *et al.*, 2021).

Por otro lado, *Aeromonas hydrophila* es una bacteria gramnegativa, al igual que *A. johnsonii*, que está presente en cuerpos de agua dulce, marinos y de aguas residuales (Janelidze *et al.*, 2022). Este microorganismo se clasifica como un patógeno oportunista asociado principalmente a enfermedades en los peces (Neamat-Allah *et al.*, 2021). Sin embargo, también está asociada con enfermedades en humanos, ya que esta bacteria puede propagarse a través de alimentos contaminados (Wang *et al.*, 2021), a través del consumo de pescado enfermo o por contacto directo con agua contaminada (Zhang *et al.*, 2022). Además, se asocia con la resistencia a los antibióticos (Anjur *et al.*, 2021). Encontrar el dominio de estas

especies en las secciones finales de las muestras del río puede dar una indicación de la contaminación asociada con los efectos antropogénicos, como la industrialización y la urbanización cerca de ellos.

En la muestra RA se observa un aumento de *A. hydrophila* y *Tolomonas auensis*. Además, una disminución de *Polaromonas naphthalenivorans*. Por otro lado, se encontró un incremento de *A. hydrophila* y *A. johnsonii* en la muestra RF. La bacteria *T. auensis* cuenta con la capacidad de sintetizar tolueno, se ha encontrado en ambientes de agua dulce donde ha sido aislada (Roman *et al.*, 2021) y no es reconocida como patógena para la salud humana (Lee *et al.*, 2022). Adicionalmente, el género *Polaromonas* se ha encontrado en una variedad de ambientes, que incluyen agua de mar, agua subterránea, suelo y agua del grifo (Hwang *et al.*, 2021). Los estudios han demostrado cómo la especie *P. naphthalenivorans* puede oxidar varios compuestos como el arseniato, los compuestos orgánicos recalcitrantes y oxidar el hidrógeno molecular (Grigoryan *et al.*, 2022). Posteriormente, algunos aislados de *A. johnsonii* pueden adquirir genes que codifican resistencia a los antibióticos e incluso pueden servir como reservorios de estos genes. Los estudios han informado que esta bacteria es resistente a la ampicilina (Jia *et al.*, 2021).

Se identificaron bacterias asociadas a la biorremediación, como *Acidovorax sp. KKS102* que es una bacteria capaz de degradar bifenilo y policlorobifenilo. Poder degradar estos productos es prometedor en el campo de la biorremediación, ya que este compuesto químico es un producto nocivo, no solo para la salud humana y animal, sino también para el medio ambiente debido a que es difícil de degradar (Shehu & Alias 2018). Además, *D. aromatica* puede metabolizar compuestos aromáticos. La presencia de este género está relacionada con la degradación de contaminantes xenobióticos (Parida *et al.*, 2022), que son contaminantes orgánicos generados por el ser humano (Zhang *et al.*, 2021). Adicionalmente, *Rhodoferax ferrireducens* se encontró en mayor proporción en la muestra RA1, es una especie mesófila que crece en un rango de temperatura óptimo entre 15 a 30°C (Thulasinathan *et al.*, 2022). Esta bacteria se caracteriza por reducir el hierro y pasarlo a un estado de oxidación reducido (Finneran *et al.*, 2003). La presencia de estos microorganismos podría ser un indicio de contaminación por hidrocarburos aromáticos y clorados en aquellas secciones donde se

tomaron las muestras. Es por esto que dichas bacterias juegan un papel fundamental en la degradación de estos compuestos.

Encontrar microorganismos patógenos en ambientes acuáticos representa una alerta para la salud pública (Zhao *et al.*, 2022). Esto se debe a que el ambiente acuático es un medio de propagación de estos microorganismos patógenos (Zhao *et al.*, 2022; Leonov *et al.*, 2022) y esta agua se utiliza para riego de cultivos y consumo animal (Kotsiri *et al.*, 2022). En adición, el género *Acinetobacter spp.* es un patógeno que está relacionado con el desarrollo de resistencia a fármacos (Carvalheira *et al.*, 2021) como es el caso de la especie *A. johnsonii* cuyos genes, además de servir como reservorio de genes de resistencia a antibióticos, son susceptibles a muchos de estos fármacos (Jia *et al.*, 2021; Jia *et al.*, 2022). Además, *A. hydrophila*, que se encuentra en agua dulce (van Bel *et al.*, 2020), ha sido vinculada a ser un patógeno en peces, lo que puede generar problemas en la salud humana e impactar económicamente en este rubro (Dhanapala *et al.*, 2021). Su prevalencia y la implementación de este recurso para diversas actividades puede ser causa de riesgo para la salud pública. Por otro lado, en una menor abundancia, se encontró *Pseudomonas aeruginosa*, bacteria de relevancia en salud pública, por ser patógena para animales, plantas y humanos. Estos últimos presentando síntomas, desde infecciones leves, hasta infecciones potencialmente mortales. *P. aeruginosa* puede colonizar cuerpos de agua, incluso si estos tienen una disponibilidad limitada de nutrientes, como es el caso del agua potable (Alatraktchi, 2022). Su importancia aumenta, ya que su tratamiento es difícil y limitado, esto teniendo en cuenta que la bacteria ha generado resistencia a la mayoría de los antibióticos (Azam & Khan, 2019). La OMS estima que la resistencia a los antibióticos causará 10 millones de muertes al año para 2050 (Khadraoui *et al.*, 2022).

El uso creciente de antibióticos, incluso en situaciones en las que no son necesarios, ha generado presión sobre el medio ambiente, la aparición de contaminantes emergentes y subproductos tóxicos que representan una amenaza para la salud (Hoslett *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2021). El gen *adeF* se destaca como el más abundante entre las muestras y ha sido identificado como uno de los genes de resistencia a antibióticos más abundantes en muestras de agua (Chen *et al.*, 2022). Pertenece a la clase de fármacos de las tetraciclinas y los antibióticos fluoroquinolonas (Yang *et al.*, 2022). La muestra RF0 fue la única en la que

estuvo presente el gen tetO, que se caracteriza por ser resistente a la tetraciclina. Este puede dispersarse en el medio acuático a través de aguas residuales domésticas, industriales, hospitalarias y agrícolas (Sazykin *et al.*, 2019). La presencia de tetO es común en áreas municipales y en presencia de animales, ya que las tetraciclinas se utilizan en medicina veterinaria, particularmente en aquellos animales que se destinan al consumo humano (Sun *et al.*, 2020; Dai *et al.*, 2020).

En particular, en los MMRA los antibióticos macrólidos y tetraciclinas fueron la clase de fármaco más común. Los antibióticos macrólidos se implementan en medicina humana por ser este el sustituto de la penicilina para aquellas personas que son alérgicas a esta última (Yuan *et al.*, 2022). Los macrólidos también se utilizan como fungicidas y en medicina veterinaria. Cuando este antibiótico llega a aguas superficiales, puede interferir en el metabolismo de los organismos presentes, afectando su desarrollo y reproducción (Ajenifuja & Oni, 2022). Muchos de estos genes de resistencia a antibióticos presentes en plásmidos permiten la transferencia horizontal, ya que al ser un elemento genético móvil facilita la propagación. Por otro lado, los que se encuentran en los cromosomas generan tasas de mutación más bajas que en los plásmidos (Zhang *et al.*, 2021). Los antibióticos presentan diversos mecanismos de resistencia para regular el transporte de fármacos en las membranas bacterianas. Uno de ellos es la salida de antibióticos, en el que los antibióticos son expulsados de la célula (Vaillancourt *et al.*, 2021). Al tener en cuenta los factores de virulencia, se encuentra que *Aeromonas hydrophilais* está ampliamente distribuida en cuerpos de agua dulce y salada, agua de riego, aguas residuales y piscinas (Almjalawi, & Allaith, 2021), además, puede producir una variedad de factores de virulencia, causando desde enfermedades leves hasta infecciones intestinales y extraintestinales (Suárez *et al.*, 2012). Uno de estos factores de virulencia son los productos extracelulares que incluyen toxinas que permiten la invasión del huésped (Rasmussen-Ivey *et al.*, 2016). La cepa ATCC7966 de *A. hydrophila* tiene el operón RTX que tiene seis genes, en los que RtxC codifica un activador para RtxA que a su vez codifica una exotoxina; por otro lado, RtxBDE codifica un transportador ABC que induce el redondeo de la célula huésped para su posterior apoptosis (Suarez *et al.*, 2012).

Finalmente, se obtuvieron ocho borradores MAG de alta calidad, de los cuales 4 se clasificaron por género y los otros 4 se clasificaron por especie, obteniendo borradores MAG

de *Aliarcobacter cryaerophilus* y *Acinetobacter johnsonii*. Ambas bacterias patógenas, en las que se desconocen parte de sus características a nivel genómico y de resistencia a antibióticos para *A. cryaerophilus*. Entender el genoma de estas especies permitiría ampliar la información asociada a enfermedades tanto en humanos como en animales (Müller *et al.*, 2020). Por otro lado, se obtuvieron 13 borradores MAG de calidad media, de los cuales 5 fueron clasificados como especie. Las 5 MAG clasificadas corresponden a las mismas especies clasificadas en las MAG de alta calidad.

5. CONCLUSIONES

Este estudio brinda información relacionada con la calidad del agua de las muestras tomadas en los cuatro afluentes del río Bogotá. Se sugiere implementar medidas más estrictas a nivel microbiológico para la reutilización del agua y así restringir la cadena de transmisión de microorganismos potencialmente patógenos, tanto para humanos, animales y plantas.

Debido al pequeño número de puntos muestreados, se sugiere para futuros estudios realizar replicas en los puntos y que el muestreo cubra un área mayor para no solo conocer en profundidad la comunidad microbiana de este ambiente sino también poder extrapolar estos datos y aumentar el conocimiento sobre los entornos, para así comprender las múltiples dinámicas, no solo de la transmisión de patógenos, la resistencia a los antibióticos y los factores de virulencia, sino también su impacto en la salud pública.

Expresiones de gratitud

Por su apoyo económico a la Universidad del Rosario a través del Fondo para el Financiamiento de Proyectos de Grado - Facultad de Ciencias Naturales, Universidad del Rosario

REFERENCIAS

Adeyemi, F. M., Wahab, A. A., Oyelami, C. A., Oyedara, O. O., Titilawo, M. A., Adebunmi, A. A., & Awoniyi, I. O. (2022). Hydrology survey and water quality assessment of water sources in three selected towns in Osun State, Southwest Nigeria. *International Journal of Energy and Water Resources*, 1-14.

- Ajenifuja, O. A., & Oni, O. (2022). Susceptibility pattern of enteric bacteria isolated during rainy season in some areas of Ado-Ekiti to macrolide antibiotics. *Microbes and Infectious Diseases*, 3(1), 149-159.
- Alatraktchi, F. A. A. (2022). Rapid measurement of the waterborne pathogen *Pseudomonas aeruginosa* in different spiked water sources using electrochemical sensing: towards on-site applications. *Measurement*, 111124.
- Alcock, B. P., Raphenya, A. R., Lau, T. T., Tsang, K. K., Bouchard, M., Edalatmand, A., ... & McArthur, A. G. (2020). CARD 2020: antibiotic resistance surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic acids research*, 48(D1), D517-D525.
- Alqahtani, A., Shah, M. I., Aldrees, A., & Javed, M. F. (2022). Comparative Assessment of Individual and Ensemble Machine Learning Models for Efficient Analysis of River Water Quality. *Sustainability*, 14(3), 1183.
- Anjur, N., Sabran, S. F., Daud, H. M., & Othman, N. Z. (2021). An update on the ornamental fish industry in Malaysia: *Aeromonas hydrophila*-associated disease and its treatment control. *Veterinary World*, 14(5), 1143.
- Azam, M. W., & Khan, A. U. (2019). Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug discovery today*, 24(1), 350-359.
- Beghini, F., McIver, L. J., Blanco-Míguez, A., Dubois, L., Asnicar, F., Maharjan, S., ... & Segata, N. (2021). Integrating taxonomic, functional, and strain-level profiling of diverse microbial communities with bioBakery 3. *Elife*, 10, e65088.
- Bowers, R. M., Kyrpides, N. C., Stepanauskas, R., Harmon-Smith, M., Doud, D., Reddy, T. B. K., ... & Woyke, T. (2017). Minimum information about a single amplified genome (MISAG) and a metagenome-assembled genome (MIMAG) of bacteria and archaea. *Nature biotechnology*, 35(8), 725-731.
- Breitwieser, F. P., & Salzberg, S. L. (2020). Pavian: interactive analysis of metagenomics data for microbiome studies and pathogen identification. *Bioinformatics*, 36(4), 1303-1304.

- Chaumeil, P. A., Mussig, A. J., Hugenholtz, P., & Parks, D. H. (2020). GTDB-Tk: a toolkit to classify genomes with the Genome Taxonomy Database.
- Chen, X., He, Z., Zhao, J., Liao, M., Xue, Y., Zhou, J., ... & Sun, C. (2022). Metagenomic Analysis of Bacterial Communities and Antibiotic Resistance Genes in *Penaeus monodon* Biofloc-Based Aquaculture Environments. *Frontiers in Marine Science*.
- Chen, L., Zheng, D., Liu, B., Yang, J., & Jin, Q. (2016). VFDB 2016: hierarchical and refined dataset for big data analysis—10 years on. *Nucleic acids research*, *44*(D1), D694-D697.
- Dai, J., Meng, X., Zhang, Y., & Huang, Y. (2020). Effects of modification and magnetization of rice straw derived biochar on adsorption of tetracycline from water. *Bioresource Technology*, *311*, 123455.
- Díaz-Martínez, J. A., & Granada-Torres, C. A. (2018). Effect of anthropic activities on the physicochemical and microbiological characteristics of the Bogotá River along the municipality of Villapinzón-Cundinamarca. *Revista de la Facultad de Medicina*, *66*(1), 45-52.
- Fernández, M. F. C., Casallas, D. M. D., & Marín, C. E. M. (2015). Análisis de la Calidad del Agua del Río Bogotá Durante el Periodo 2008–2015 a Partir de Herramientas de Minería de Datos. *Publicaciones e Investigación*, *9*, 37-50.
- Fierro Ortiz, E., & Caballero Rodríguez, L. E. (2015). Evaluación de la calidad del agua del humedal de Santa María del Lago mediante el uso de índices biológicos y fisicoquímicos para su implementación en otros humedales.
- Finneran, K. T., Johnsen, C. V., & Lovley, D. R. (2003). *Rhodoferax ferrireducens* sp. nov., a psychrotolerant, facultatively anaerobic bacterium that oxidizes acetate with the reduction of Fe (III). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *53*(3), 669-673.
- Gorde, S. P., & Jadhav, M. V. (2013). Assessment of water quality parameters: a review. *J Eng Res Appl*, *3*(6), 2029-2035.
- Gualdrón Durán, L. E. (2016). Evaluación de la calidad de agua de ríos de Colombia usando parámetros fisicoquímicos y biológicos.

- Grigoryan, A. A., Bondici, V. F., Kryachko, Y., Khan, N. H., Lawrence, J. R., Wolfaardt, G. M., ... & Korber, D. R. (2022). Draft Genome Sequence of *Polaromonas eurypsychrophila* AER18D-145, Isolated from a Uranium Tailings Management Facility in Northern Saskatchewan, Canada. *Microbiology Resource Announcements*, e00013-22.
- Gronewold, A. D., & Wolpert, R. L. (2008). Modeling the relationship between most probable number (MPN) and colony-forming unit (CFU) estimates of fecal coliform concentration. *Water research*, 42(13), 3327-3334
- Han, X., Wang, F., Zhang, D., Feng, T., & Zhang, L. (2021). Nitrate-assisted biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the water-level-fluctuation zone of the three Gorges Reservoir, China: Insights from in situ microbial interaction analyses and a microcosmic experiment. *Environmental Pollution*, 268, 115693.
- Henao-Herreño, L. X., López-Tamayo, A. M., Ramos-Bonilla, J. P., Haas, C. N., & Husserl, J. (2017). Risk of illness with *Salmonella* due to consumption of raw unwashed vegetables irrigated with water from the Bogotá River. *Risk Analysis*, 37(4), 733-743.
- Hernández-De Lira, I., David Huber, M. P. L. E., Terán, J. S. M., & Balagurusamy, N. (2014). Metagenómica: concepto y aplicaciones en el mundo microbiano. *FRONTERAS EN MICROBIOLOGIA APLICADA*, 154.
- Ho, J. Y., Jong, M. C., Acharya, K., Liew, S. S. X., Smith, D. R., Noor, Z. Z., ... & Eswaran, J. (2021). Multidrug-resistant bacteria and microbial communities in a river estuary with fragmented suburban waste management. *Journal of hazardous materials*, 405, 124687.
- Hoslett, J., Ghazal, H., Katsou, E., & Jouhara, H. (2021). The removal of tetracycline from water using biochar produced from agricultural discarded material. *Science of The Total Environment*, 751, 141755.
- Huang, L., Ye, J., Xiang, H., Jiang, J., Wang, Y., & Li, Y. (2020). Enhanced nitrogen removal from low C/N wastewater using biodegradable and inert carriers: Performance and microbial shift. *Bioresource Technology*, 300, 122658.
- Illumina. (2015). Shotgun Metagenomic Sequencing.

- Janelidze, N., Jaiani, E., Didebulidze, E., Kusradze, I., Kotorashvili, A., Chalidze, K., ... & Tediashvili, M. (2022). Phenotypic and Genetic Characterization of Aeromonas hydrophila Phage AhMtk13a and Evaluation of Its Therapeutic Potential on Simulated Aeromonas Infection in Danio rerio. *Viruses*, *14*(2), 412.
- Jia., Guan, Y., Li, X., Fan, X., Zhu, Z., Xing, H., & Wang, Z. (2021). Phenotype profiles and adaptive preference of Acinetobacter johnsonii isolated from Ba River with different environmental backgrounds. *Environmental research*, *196*, 110913.
- Jia, J., Liu, M., Feng, L., & Wang, Z. (2022). Comparative genomic analysis reveals the evolution and environmental adaptation of Acinetobacter johnsonii. *Gene*, *808*, 145985.
- Joseph, S. M., Battaglia, T., Maritz, J. M., Carlton, J. M., & Blaser, M. J. (2019). Longitudinal comparison of bacterial diversity and antibiotic resistance genes in New York City sewage. *MSystems*, *4*(4), e00327-19.
- Kaiser, R. A., Taing, L., & Bhatia, H. (2022). Antimicrobial Resistance and Environmental Health: A Water Stewardship Framework for Global and National Action. *Antibiotics*, *11*(1), 63.
- Kim, D., Song, L., Breitwieser, F. P., & Salzberg, S. L. (2016). Centrifuge: rapid and sensitive classification of metagenomic sequences. *Genome research*, *26*(12), 1721-1729.
- Kotsiri, Z., Vidic, J., & Vantarakis, A. (2022). Applications of biosensors for bacteria and virus detection in food and water—A systematic review. *journal of environmental sciences*, *111*, 367-379.
- Khadraoui, N., Essid, R., Jallouli, S., Damergi, B., Ben Takfa, I., Abid, G., ... & Tabbene, O. (2022). Antibacterial and antibiofilm activity of Peganum harmala seed extract against multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa pathogenic isolates and molecular mechanism of action. *Archives of Microbiology*, *204*(2), 1-12.
- Lee, J., Beck, K., & Bürgmann, H. (2022). Wastewater bypass is a major temporary point-source of antibiotic resistance genes and multi-resistance risk factors in a Swiss river. *Water Research*, *208*, 117827.

- Leonov, V., Leonova, L., Cherepanov, D., Savin, L., Tkalich, A., Petrovskaya, Y., ... & Ananina, I. (2022). The Growth Kinetics of Pathogenic Microorganisms Under Conditions Modelling the Vital Functions of Iron-Oxidizing Bacteria. *BioNanoScience*, 1-5.
- Li, Y., Li, Q., Jiao, S., Liu, C., Yang, L., Huang, G., ... & Brancelj, A. (2022). Water Quality Characteristics and Source Analysis of Pollutants in the Maotiao River Basin (SW China). *Water*, 14(3), 301.
- Liu, S., Wang, P., Wang, C., Wang, X., & Chen, J. (2021). Anthropogenic disturbances on antibiotic resistome along the Yarlung Tsangpo River on the Tibetan Plateau: Ecological dissemination mechanisms of antibiotic resistance genes to bacterial pathogens. *Water Research*, 202, 117447.
- Mao, G., Liang, J., Wang, Q., Zhao, C., Bai, Y., Liu, R., ... & Qu, J. (2021). Epilithic biofilm as a reservoir for functional virulence factors in wastewater-dominant rivers after WWTP upgrade. *Journal of Environmental Sciences*, 101, 27-35.
- Meneses-Campo, Y., Castro-Rebolledo, M. I., & Jaramillo-Londoño, Á. M. (2019). Comparison of Water Quality Between Two Andean Rivers by Using the BMWP/COL. and ABI. Indices. *Acta Biológica Colombiana*, 24(2), 299-310.
- Moshi, H. A., Shilla, D. A., Kimirei, I. A., O'Reilly, C., Clymans, W., Bishop, I., & Loiselle, S. A. (2022). Community monitoring of coliform pollution in Lake Tanganyika. *Plos one*, 17(1), e0262881.
- Moreno-Mesonero, L., Ferrús, M. A., & Moreno, Y. (2020). Determination of the bacterial microbiome of free-living amoebae isolated from wastewater by 16S rRNA amplicon-based sequencing. *Environmental Research*, 190, 109987.
- Müller, E., Hotzel, H., Ahlers, C., Hänel, I., Tomaso, H., & Abdel-Glil, M. Y. (2020). Genomic analysis and antimicrobial resistance of *Aliarcobacter cryaerophilus* strains from German water poultry. *Frontiers in Microbiology*, 1549
- Neamat-Allah, A. N., Mahmoud, E. A., & Mahsoub, Y. (2021). Effects of dietary white mulberry leaves on hemato-biochemical alterations, immunosuppression and oxidative stress induced

by *Aeromonas hydrophila* in *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 108, 147-156.

Ngobeni, R., Gilchrist, C., & Samie, A. (2022). Prevalence and Distribution of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia lamblia* in Rural and Urban Communities of South Africa. *Turkiye Parazitoloji Dergisi*, 46(1), 14-19.

Parida, P. K., Behera, B. K., Dehury, B., Rout, A. K., Sarkar, D. J., Rai, A., ... & Mohapatra, T. (2022). Impact of Anthropogenic Activity on Community Structure and Function of Microbiomes in Polluted Stretches of River Yamuna at New Delhi, India: Insights From Shotgun Metagenomics.

Posada-Perlaza, C. E., Ramírez-Rojas, A., Porras, P., Adu-Oppong, B., Botero-Coy, A. M., Hernández, F., ... & Zambrano, M. M. (2019). Bogotá River anthropogenic contamination alters microbial communities and promotes spread of antibiotic resistance genes. *Scientific reports*, 9(1), 1-13.

Omer, N. H. (2019). Water quality parameters. *Water quality-science, assessments and policy*, 18.

Riesenfeld, C. S., Schloss, P. D., & Handelsman, J. (2004). Metagenomics: genomic analysis of microbial communities. *Annu. Rev. Genet.*, 38, 525-552.

Rodríguez Forero, A., González Mantilla, J.F. & Suárez Martínez, R. (2009) Accumulation of Lead, Chromium, and Cadmium in Muscle of capitán (*Eremophilus mutisii*), a Catfish from the Bogota River Basin. *Arch Environ Contam Toxicol* 57, 359–365
<https://doi.org/10.1007/s00244-008-9279-2>

Roman, V. L., Merlin, C., Baron, S., Larvor, E., Le Devendec, L., Virta, M. P., & Bellanger, X. (2021). Abundance and environmental host range of the SXT/R391 ICEs in aquatic environmental communities. *Environmental Pollution*, 288, 117673.

Ruiz-Moreno, H. A., López-Tamayo, A. M., Caro-Quintero, A., Hussler, J., & Barrios, A. F. G. (2019). Metagenome level metabolic network reconstruction analysis reveals the microbiome in the Bogotá River is functionally close to the microbiome in produced water. *Ecological Modelling*, 399, 1-12.

- Salinero, K. K., Keller, K., Feil, W. S., Feil, H., Trong, S., Di Bartolo, G., & Lapidus, A. (2009). Metabolic analysis of the soil microbe *Dechloromonas aromatica* str. RCB: indications of a surprisingly complex life-style and cryptic anaerobic pathways for aromatic degradation. *BMC genomics*, *10*(1), 1-23.
- Sazykin, I. S., Seliverstova, E. Y., Khmelevtsova, L. E., Azhogina, T. N., Kudeevskaya, E. M., Khammami, M. I., ... & Sazykina, M. A. (2019). Occurrence of antibiotic resistance genes in sewages of Rostov-on-Don and lower Don River. *Теоретическая и прикладная экология*, (4), 76-82.
- Secretaría Distrital de Planeación de Bogotá. (2014). Aproximación a las implicaciones del fallo del consejo de estado sobre el Río Bogotá. Recuperado de: http://www.sdp.gov.co/sites/default/files/aproximacion_a_las_implicaciones_del_fallo_del_consejo_de_estado_sobre_el_rio_bogota.pdf
- Sun, J., Jin, L., He, T., Wei, Z., Liu, X., Zhu, L., & Li, X. (2020). Antibiotic resistance genes (ARGs) in agricultural soils from the Yangtze River Delta, China. *Science of The Total Environment*, *740*, 140001.
- Staley, C., & Sadowsky, M. J. (2016). Application of metagenomics to assess microbial communities in water and other environmental matrices. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, *96*(1), 121-129.
- Shehu, D., & Alias, Z. (2018). Dechlorination of polychlorobiphenyl (PCB) degradation metabolites by a recombinant glutathione transferase from *Acidovorax* sp. KKS102. *FEBS Open Bio*.
- Thulasinathan, B., Jayabalan, T., Arumugam, N., Kulanthaisamy, M. R., Kim, W., Kumar, P., ... & Alagarsamy, A. (2022). Wastewater substrates in microbial fuel cell systems for carbon-neutral bioelectricity generation: An overview. *Fuel*, *317*, 123369.
- van Bel, N., van der Wielen, P., Wullings, B., van Rijn, J., van der Mark, E., Ketelaars, H., & Hijnen, W. (2020). *Aeromonas* Species from Nonchlorinated Distribution Systems and Their Competitive Planktonic Growth in Drinking Water. *Applied and Environmental Microbiology*, *87*(5), e02867-20.

- Vasconcellos, F. D. S., Iganci, J. R. V., & Ribeiro, G. A. (2022). Qualidade microbiológica da água do rio São Lourenço, São Lourenço do Sul, Rio Grande do Sul. *Arquivos do Instituto Biológico*, 73, 177-181.
- Vaillancourt, M., Limsuwannarot, S. P., Bresee, C., Poopalarajah, R., & Jorth, P. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* mexR and mexEF Antibiotic Efflux Pump Variants Exhibit Increased Virulence. *Antibiotics*, 10(10), 1164.
- Vega, L., Jaimes, J., Morales, D., Martínez, D., Cruz-Saavedra, L., Muñoz, M., & Ramírez, J. D. (2021). Microbial Communities' Characterization in Urban Recreational Surface Waters Using Next Generation Sequencing. *Microbial Ecology*, 1-17.
- Wood, D. E., Lu, J., & Langmead, B. (2019). Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome biology*, 20(1), 1-13.
- Wang, Q., Xu, Y., Liu, L., Li, L. Y., Lin, H., Wu, X. Y., ... & Luo, Y. (2021). The prevalence of ampicillin-resistant opportunistic pathogenic bacteria undergoing selective stress of heavy metal pollutants in the Xiangjiang River, China. *Environmental Pollution*, 268, 115362.
- Xu, H., Gao, Q., & Yuan, B. (2022). Analysis and identification of pollution sources of comprehensive river water quality: Evidence from two river basins in China. *Ecological Indicators*, 135, 108561
- Yang, X., Yan, L., Yang, Y., Zhou, H., Cao, Y., Wang, S., ... & Qiu, Z. (2022). The Occurrence and Distribution Pattern of Antibiotic Resistance Genes and Bacterial Community in the Ili River. *Frontiers in Environmental Science*, 212.
- Yuan, Q., Sui, M., Qin, C., Zhang, H., Sun, Y., Luo, S., & Zhao, J. (2022). Migration, Transformation and Removal of Macrolide Antibiotics in The Environment: A Review. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-18.
- Zhang, C., Zhao, Z., Dong, S., & Zhou, D. (2021). Simultaneous elimination of amoxicillin and antibiotic resistance genes in activated sludge process: contributions of easy-to-biodegrade food. *Science of the Total Environment*, 764, 142907.

Zhao, H., Guan, X., Zhang, F., Huang, Y., Xia, D., Hu, L., ... & He, C. (2022). Rational design of a bismuth oxyiodide (Bi/BiOI-xI) catalyst for synergistic photothermal and photocatalytic inactivation of pathogenic bacteria in water. *Journal of Materials Science & Technology*, 100, 110-119.

Zhang, L., Ma, L., Yang, Q., Liu, Y., Ai, X., & Dong, J. (2022). Sanguinarine Protects Channel Catfish against *Aeromonas hydrophila* Infection by Inhibiting Aerolysin and Biofilm Formation. *Pathogens*, 11(3), 323.

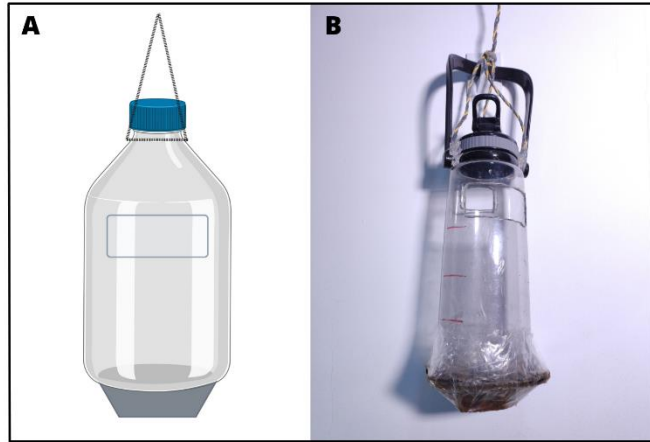
Zhao, X. L., Qi, Z., Huang, H., Tu, J., Song, X. J., Qi, K. Z., & Shao, Y. (2022). Coexistence of antibiotic resistance genes, fecal bacteria, and potential pathogens in anthropogenically impacted water. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-14.

Zhang, S., Amanze, C., Sun, C., Zou, K., Fu, S., Deng, Y., ... & Liang, Y. (2021). Evolutionary, genomic, and biogeographic characterization of two novel xenobiotics-degrading strains affiliated with *Dechloromonas*. *Heliyon*, 7(6), e07181

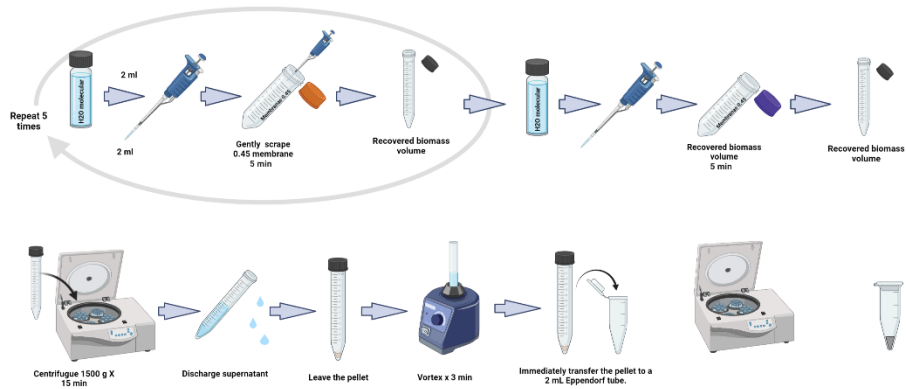
Información suplementaria

S1. Coordenadas de los siete puntos de toma de muestras de agua

| COORDENADA | RÍO | SECCIÓN |
|----------------------|-----------|---------|
| 4.573778, -74.082644 | Fucha | 0 |
| 4.647899, -74.128641 | Fucha | 1 |
| 4.624797, -74.064634 | Arzobispo | 0 |
| 4.715820, -74.094953 | Arzobispo | 1 |
| 4.566967, -74.140681 | Tunjuelo | 0 |
| 4.595827, -74.152327 | Tunjuelo | 1 |
| 4.578217, -74.252136 | Soacha | 1 |



S2. A. Diseño del montaje experimental para la colecta de agua **B.** Montaje de colecta de agua



S3. Protocolo de recuperación de biomasa para la extracción de ADN a partir de muestras de agua.

S4. Clasificación de los MMRA según su clase de fármaco y mecanismo de resistencia con base en el software RGI.

| MMRA | Clase de fármaco | Mecanismo de resistencia |
|--------------------|--|-----------------------------------|
| AdeF | antibiótico de fluoroquinolona; antibiótico de tetraciclina | Salida de antibiótico |
| APH(3'')-ib | antibiótico aminoglucósido | Inactivación de antibióticos |
| APH(6)-ib | antibiótico aminoglucósido | Inactivación de antibióticos |
| mdtB | antibiótico aminocumarina | Salida de antibiótico |
| mdtC | antibiótico aminocumarina | Salida de antibiótico |
| mexK | antibiótico macrólido; antibiótico de tetraciclina; triclosán | Salida de antibiótico |
| mexW | antibiótico macrólido; antibiótico de fluoroquinolona; antibiótico de tetraciclina; tinte de acridina; antibiótico fenicol; agentes desinfectantes y colorantes intercalantes | Salida de antibiótico |
| mphE | antibiótico macrólido | Inactivación de antibióticos |
| msbA | antibiótico nitroimidazol | Salida de antibiótico |
| msrE | antibiótico macrólido; antibiótico de lincosamida; antibiótico estreptogramina; antibiótico de tetraciclina; antibiótico de oxazolidinona; antibiótico fenicol; antibiótico pleuromutilina | Protección antibiótica |
| MuxB | macrolide antibiotic; monobactam; tetracycline antibiotic; aminocoumarin antibiotic | Salida de antibiótico |
| MuxC | antibiótico macrólido; monobactámico; antibiótico de tetraciclina; antibiótico aminocumarina c | Salida de antibiótico |
| sul1 | antibiótico de sulfonamida | Reemplazo de diana de antibiótico |
| tetO | antibiótico de tetraciclina | Protección antibiótica |