

Universidad del Mar

Campus Puerto Ángel



CARACTERIZACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE
DIATOMEAS (HETEROKONTOPHYTA, BACILLARIOPHYCEAE) MEDIANTE DATOS
DE ADN AMBIENTAL EN LA COSTA CENTRAL DE OAXACA

Tesis

Que para obtener el título profesional de

licenciado en Biología Marina

Presenta

Pedro Luis López Infanzón Espinoza

Directora

Dra. Valentina Islas Villanueva

Resumen

Las diatomeas son uno de los grupos de microalgas más abundantes en los cuerpos de agua y desempeñan un papel clave como productores primarios en los ecosistemas marinos, además de tener un gran potencial como bioindicadores de la salud ambiental. En este estudio, se exploró la diversidad y estructura genética de seis poblaciones de diatomeas en tres localidades del litoral de Oaxaca, a partir de datos obtenidos mediante secuenciación masiva (metabarcoding) de muestras de ADN ambiental de sedimento marino. La selección de especies partió de su presencia en todas las localidades muestreadas y en la diversidad de haplotipos registrados. Se realizó la delimitación de especies mediante ASAP (Assemble Species by Automatic Partitioning) y árboles filogenéticos. Para estimar el tamaño de las poblaciones, se consideró la abundancia relativa de especies con base en el número de lecturas de secuenciación por MOTU. Asimismo, se calcularon los índices de fijación (F_{ST} y ϕ_{ST}), la diversidad haplotípica (h) y nucleotídica (π), se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) y se construyeron redes de haplotipos. Los índices de fijación superiores a 0.5 y la alta varianza molecular (80%) sugieren que las dinámicas oceánicas de la región influyen en la estructura genética de las poblaciones de diatomeas. Estos hallazgos resaltan la importancia de integrar enfoques moleculares y convencionales para comprender la ecología y evolución de las diatomeas en ambientes marinos.

Palabras clave: abundancias relativas, ASAP, bioinformática, corrientes oceánicas, delimitación de especies, metabarcoding.

Abstract

Diatoms are one of the most common types of microalgae in water. They are important bioindicators of environmental health and play a key role as primary producers in marine ecosystems. This study explored the genetic diversity and structure of six diatom populations from three localities along the coast of Oaxaca, using data obtained through high-throughput sequencing (metabarcoding) of environmental DNA from marine sediment samples. Species selection was based on their presence in all sampled localities and the diversity of haplotypes registered. Species delimitation was performed using ASAP (Assemble Species by Automatic Partitioning) and phylogenetic trees. To estimate population sizes, we part from the relative abundance of species based on the number of sequencing reads per MOTU. To explore the genetic structure fixation indices (F_{ST} and ϕ_{st}), haplotype (h) and nucleotide (π) diversity were conducted, as well as an analysis of molecular variance (AMOVA), and constructed haplotype networks. The results suggest that oceanic dynamics in the region have influenced the genetic structure of diatom populations, as indicated by fixation indices greater than 0.5. A high level of genetic complexity was observed, with up to 80% of molecular variance explained at the intraspecific level within localities, patterns that might go unnoticed using traditional methodologies. These findings highlight the importance of integrating molecular and conventional approaches to better understand the ecology and evolution of marine diatoms.

Keywords: ASAP, bioinformatics, ocean currents, metabarcoding, relative abundances, species delimitation.

Dedicatoria

Este trabajo está dedicado a mi familia por todo el amor incondicional y apoyo que me brindaron en todo momento hasta la conclusión de este trabajo, también a cada amigo que me acompañó a lo largo de este proceso y por último a cada adversidad y desafío que se me presentó durante el proceso de desarrollo de este documento, pues solo tras superar la prueba del fuego es que el acero es forjado.

आग की

ज्वालाओं से ही

रेत बने लोहा

Quien renuncia a la idea de la victoria antes de la batalla siempre está destinado a perder.

Agradecimientos

Se agradece a la Dra. Valentina Islas Villanueva, quien fungió como directora de tesis, al M. en C. Abraham Villa Melchor y al proyecto “Evaluación del potencial de las técnicas de secuenciación masiva, ADN ambiental y código de barras genético para la descripción de la biodiversidad de los ecosistemas marinos y costeros de Oaxaca PDCPN-2015-1418”. Por el permiso y el acceso a la base de datos con la que se realizó esta tesis.

Al comité de revisores, al Dr. Julio Adolfo Acosta Calderón, a la M. en C. Samantha Gabriela Karam Martínez, al M. en C. Jorge Eduardo Herrera Galindo y a la Dra. Liliana Castro Cubillos, por su tiempo, guía y comentarios, buscando garantizar la máxima calidad de este documento. Remarcando la participación del Dr. Julio, quien junto al Dr. Rolando Cardeña López participó también en la revisión del protocolo de tesis.

Índice

ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE ANEXOS.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
<i>Marcadores moleculares.....</i>	<i>2</i>
<i>Genética de poblaciones.....</i>	<i>3</i>
<i>ADN ambiental.....</i>	<i>5</i>
<i>Ecología de diatomeas.....</i>	<i>7</i>
ANTECEDENTES	9
JUSTIFICACIÓN	11
HIPÓTESIS.....	12
OBJETIVOS	12
MATERIALES Y MÉTODOS	13
<i>Área de estudio</i>	<i>13</i>
<i>Obtención de datos.....</i>	<i>15</i>
<i>Determinación de MOTUS.....</i>	<i>16</i>
<i>Tamaño poblacional.....</i>	<i>18</i>
<i>Estructura genética</i>	<i>19</i>
RESULTADOS.....	21
<i>Pseudo-nitzschia lundholmiae H. C. Lim, S. T. Teng, C. P. Leaw & P. T. Lim,</i>	<i>25</i>
<i>Hemiaulus chinensis Greville</i>	<i>29</i>
<i>Tryblionella apiculata Gregory.....</i>	<i>33</i>
<i>Ditylum brightwelli (T.West) Grunow.....</i>	<i>37</i>
<i>Nitzschia longissima (Brébisson) Ralfs.....</i>	<i>41</i>
<i>Cylindrotheca closterium (Ehrenberg) Reimann & J.C.Lewin.....</i>	<i>45</i>
DISCUSIÓN	50
<i>Poblaciones estudiadas</i>	<i>50</i>
<i>Caracterización genética de poblaciones seleccionadas</i>	<i>52</i>
<i>Herramientas moleculares para evaluar la diversidad genética.....</i>	<i>57</i>
CONCLUSIÓN.....	60
REFERENCIAS	61
ANEXOS.....	76

Índice de tablas

Tabla I: Ubicación geográfica de las estaciones de muestreo de sedimento marino, todas las muestras fueron obtenidas a 30 m de profundidad en 2019.....	16
Tabla II: Características ecológicas y resultados de BLASTn para el fragmento de del gen COI-5p (331 pb) de especies de diatomeas seleccionadas de las muestras de sedimento marino de 30m de profundidad en la costa central de Oaxaca.	23
Tabla III: Índices de diversidad molecular (diversidad haplotípica y nucleotídica) y distribución de haplotipos por localidad en especies de diatomeas seleccionadas...24	
Tabla IV: Número de individuos calculado para cada haplotipo de <i>Pseudo-nitzschia lundholmiae</i> por localidad.	25
Tabla V: Índices de fijación (F_{ST} y ϕ_{ST}) calculados para <i>Pseudo-nitzschia lundholmiae</i> . Los valores significativos se muestran en negritas.	26
Tabla VI: AMOVA F_{ST} de <i>Pseudo-nitzschia lundholmiae</i> . Componente de la variancia entre poblaciones (Va) y dentro de la población (Vb).	27
Tabla VII: Número de individuos calculados por haplotipo de <i>Hemiaulus chinensis</i> por localidad.	29
Tabla VIII: Índices de fijación (F_{ST} y ϕ_{ST}) calculados para <i>Hemiaulus chinensis</i> . Los valores significativos se muestran en negritas.	30
Tabla IX: AMOVA F_{ST} de <i>Hemiaulus chinensis</i> . Componente de la variancia entre poblaciones (Va) y dentro de la población (Vb).	31
Tabla X: Número de individuos calculado para cada haplotipo de <i>Tryblionella apiculata</i> por localidad.....	33
Tabla XI: índices de fijación (F_{ST} y ϕ_{ST}) calculados para <i>Tryblionella apiculata</i> . Los valores significativos se muestran en negritas.	34
Tabla XII: AMOVA F_{ST} de <i>Tryblionella apiculata</i> Componente de la variancia entre poblaciones (Va) y dentro de la población (Vb).	35
Tabla XIII: Número de individuos calculado para cada haplotipo de <i>Ditylum brightwelli</i> por localidad.....	37
Tabla XIV: Índices de fijación (F_{ST} y ϕ_{ST}) calculados para <i>Ditylum brightwelli</i> . Los valores significativos se muestran en negritas.	38

Tabla XV: AMOVA F_{ST} de <i>Ditylum brightwelli</i> . Componente de la variancia entre poblaciones (Va) y dentro de la población (Vb).....	39
Tabla XVI: Número de individuos calculado para cada haplotipo de <i>Nitzschia longissima</i> por localidad.	41
Tabla XVII: Índices de fijación (F_{ST} y ϕ_{ST}) calculados para <i>Nitzschia longissima</i> , los valores significativos se muestran en negritas.	44
Tabla XVIII: AMOVA F_{ST} de <i>Nitzschia longissima</i> , Componente de la variancia entre poblaciones (Va) y dentro de la población (Vb).....	44
Tabla XIX: Número de individuos calculado para cada haplotipo de <i>Cylindrotheca closterium</i> por localidad.	45
Tabla XX: Índices de fijación (F_{ST} y ϕ_{ST}) calculados para <i>Cylindrotheca closterium</i> . Los valores significativos se muestran en negritas.	48
Tabla XXI: AMOVA F_{ST} de <i>Cylindrotheca closterium</i> Componente de la variancia entre poblaciones (Va) y dentro de la población (Vb).....	49

Índice de figuras

Figura 1: Mapas con las localidades y velocidad y dirección de las corrientes superficiales. (A) septiembre de 2019 y (B) abril de 2019. Generados utilizando información del Servicio Marino de Copernicus de la U.E. (https://doi.org/10.48670/moi-00016)	15
Figura 2 : Árbol filogenético con longitud de ramas de máxima verosimilitud con Bootstrap de 1000 construido con el método de sustitución HKY+G para todas las especies.....	21
Figura 3: Particiones generadas por ASAP para <i>Pseudo-nitzschia lundholmiae</i> con la partición de rango 1 resaltada en rojo.....	25
Figura 4: Red de haplotipos median-joining de <i>Pseudo-nitzschia lundholmiae</i> . Con distribución y proporción. Los segmentos entre haplotipos reflejan el número de mutaciones necesarias para su diferenciación.	27

Figura 5: Árbol filogenético con longitud de ramas de máxima verosimilitud con Bootstrap de 1000 construido con el método de sustitución HKY+I de <i>Pseudonitzschia lundholmiae</i>	28
Figura 6: Particiones generadas por ASAP para <i>Hemiaulus chinensis</i> con la partición de rango 1 resaltada en rojo.	29
Figura 7: Red de haplotipos median-joining de <i>Hemiaulus chinensis</i> . Con distribución y proporción. Los segmentos entre haplotipos reflejan el número de mutaciones necesarias para su diferenciación.....	31
Figura 8: Árbol filogenético con longitud de ramas de máxima verosimilitud con Bootstrap de 1000 construido con el método de sustitución HKY+G de <i>Hemiaulus chinensis</i>	32
Figura 9: Particiones generadas por ASAP para <i>Tryblionella apiculata</i> la partición de rango 1 resaltada en rojo.	33
Figura 10: Red de haplotipos median-joining de <i>Tryblionella apiculata</i> . Con distribución y proporción. Los segmentos entre haplotipos reflejan el número de mutaciones necesarias para su diferenciación.	35
Figura 11: Árbol filogenético con longitud de ramas de máxima verosimilitud con Bootstrap de 1000 construido con el método de sustitución GTR+G de <i>Tryblionella apiculata</i>	36
Figura 12: Gráfico de particiones generadas por ASAP para <i>Ditylum brightwelli</i> Se muestra la partición de rango 1 resaltada en rojo.	37
Figura 13: Red de haplotipos median-joining de <i>Ditylum brightwelli</i> . Con distribución y proporción. Los segmentos entre haplotipos reflejan el número de mutaciones necesarias para su diferenciación.....	39
Figura 14: Árbol filogenético con longitud de ramas de máxima verosimilitud con Bootstrap de 1000 réplicas, construido con el modelo de sustitución HKY+G. de <i>Ditylum brightwelli</i>	40
Figura 15: Particiones generadas por ASAP para <i>Nitzschia longissima</i> con la partición de rango 1 resaltada en rojo.	42

Figura 16: Red de haplotipos median-joining de <i>Nitzschia longissima</i> . Con distribución y proporción. Los segmentos entre haplotipos reflejan el número de mutaciones necesarias para su diferenciación.	42
Figura 17: Árbol filogenético con longitud de ramas de máxima verosimilitud con Bootstrap de 1000 construido con el método de sustitución GTR+G de <i>Nitzschia longissima</i>	43
Figura 18: Árbol filogenético con longitud de ramas de máxima verosimilitud con Bootstrap de 1000 construido con el modelo de sustitución GTR+I+G para <i>Cylindrotheca closterium</i>	46
Figura 19: Particiones generadas por ASAP para <i>Cylindrotheca closterium</i> con la partición de rango 1 resaltada en rojo.	47
Figura 20: Red de haplotipos median-joining de <i>Cylindrotheca closterium</i> . Con distribución y proporción. Los segmentos entre haplotipos reflejan el número de mutaciones necesarias para su diferenciación.	48

Índice de Anexos

Anexo A: Intervalo de distancias ASAP de <i>Ditylum brightwelli</i>	76
Anexo B: Histograma de distancias ASAP de <i>Ditylum brightwelli</i>	76
Anexo C: Intervalo de distancias ASAP de <i>Hemiaulus chinensis</i>	76
Anexo D: Histograma de distancias ASAP de <i>Hemiaulus chinensis</i>	76
Anexo E: Histograma de distancias de <i>Pseudo-nitzschia lundholmiae</i>	77
Anexo F: Intervalo de distancias ASAP de <i>Pseudo-nitzschia lundholmiae</i>	77
Anexo G: Intervalo de distancias ASAP de <i>Cylindrotheca closterium</i>	77
Anexo H: Histograma de distancias ASAP de <i>Cylindrotheca closterium</i>	77
Anexo I: Intervalo de distancias ASAP de <i>Nitzschia longissima</i>	78
Anexo J: Histograma de distancias ASAP de <i>Nitzschia longissima</i>	78
Anexo K: Intervalo de distancias ASAP de <i>Tryblionella apiculata</i>	78
Anexo L: Histograma de distancias ASAP de <i>Tryblionella apiculata</i>	78
Anexo M: códigos de secuenciación e identidades taxonómicas asignadas por SWARMv2 y BLASTn de las especies seleccionadas.	79