



UNIVERSIDAD DEL MAR

Campus Puerto Ángel, Oaxaca

“Revisión taxonómica de la familia Suberitidae (Demospongiae: Suberitida) del Pacífico mexicano: marcadores morfológicos y moleculares”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el título profesional de:

Licenciada en Biología Marina

Presenta:

Luz Adriana Botero Cobo

Dirigido por:

Dr. José Antonio Cruz Barraza

Puerto Ángel, Oaxaca, 2016.

Resumen

La familia Suberitidae es uno de los grupos de esponjas con interés en el campo de la farmacología, no obstante, pese a su importancia, es uno de los grupos menos estudiados del orden Suberitida en el Pacífico oriental. Esto probablemente debido a la dificultad que representa su identificación taxonómica al contar con poca diversidad morfológica tanto en las espículas como en su estructura esquelética. Con la finalidad de conocer la biodiversidad del grupo y su distribución en el Pacífico mexicano se realizó un estudio integrativo, utilizando la taxonomía tradicional (basada en morfología) y el uso de marcadores moleculares, mediante dos loci, uno mitocondrial el citocromo oxidasa I (COI) y otro nuclear de la subunidad 28 del ADNr (D2). Esto con la finalidad de robustecer la identificación taxonómica de las especies, además de generar sus códigos de barras de ADN (barcoding). En total se revisaron 97 ejemplares (recolectados en 62 localidades) que corresponden a 11 especies de los géneros *Aaptos* (tres especies), *Suberites* (3), *Prosuberites* (1), *Pseudosuberites* (1) y *Terpios* (3). De estas, siete especies son potencialmente nuevas para la ciencia. Además, dos son nuevos registros para el Pacífico mexicano y una registrada por primera vez en el Pacífico oriental. El análisis de los marcadores moleculares (Máxima verosimilitud) mostró en general una topología congruente con las diferencias morfológicas de las especies analizadas, agrupándolas en géneros bien establecidos que fueron complementados con secuencias de los mismos grupos existentes (descargadas de GenBank), con excepción de los género *Prosuberites* y *Suberites* que no pudieron ser reconstruidos como monofiléticos y que formaron dos agrupaciones distantes entre ellas. Este estudio constituye un avance en el conocimiento taxonómico del orden Suberitida en el Pacífico mexicano, por ser el grupo menos estudiado del orden Suberitida. Además, la taxonomía integrativa y el desarrollo de los códigos de barra de ADN son una herramienta que facilitarán la correcta identificación de las especies en el Pacífico oriental a personas no expertas, facilitando la realización de estudios posteriores para entender los patrones de evolución y biogeografía de este grupo, así como determinar claramente a las especies que posean algún potencial farmacológico, biotecnológico o comercial.

Palabras claves: ADN, especies, esponjas, México, morfología, taxonomía.

Agradecimientos

A mi padres, la parejita eterna de enamorados, que llenan la casa de amor y felicidad. Por ser un gran ejemplo e inspiración que siempre me han apoyado y sentirme orgullosa de mi y de mi familia. El tiempo nunca me alcanzará de agradecerle a la vida tener unos padres como ustedes.

A mi hermano Carlos, por ser mi protector y guía en el camino de la vida.

A mis sobrinos Carlos Andrés (Q.D.E.P.), Laura y Carlos Mario por ser el principal motivo de alegría en mi vida.

Al Dr. Andrés López, por encaminarme al mundo de las esponjas.

A mi Director, Dr. José Antonio Cruz-Barraza, por recibirme en su laboratorio y conocer el fascinante mundo de las esponjas y la biología molecular. Por su paciencia, conocimiento, ánimo y apoyo durante el trabajo de tesis, lo cuales me hicieron crecer profesionalmente.

Al equipo esponjas (Dra. Cristina Vega, Dr. Benjamín Yáñez, Dr. Eric Bautista, M. en. C. Jesús Armando Chávez, M. en C. José María Aguilar y al Lic. Humberto Ovalle) por su amistad y apoyo durante mi estancia en Mazatlán.

A la familia Aguirre-Salas por recibirme en Mazatlán y convertirse en parte de mi familia.

A todas las personas que conocí en el laboratorio de Sistemática y Ecología Molecular: Sara, Bris, Julio, Mateo, Manuel Ley, Cristian, Osvaldo, Mario, Eduardo, José, Gaby, Brenda, Ivonne, Kenia, Celeste, Perla, y Karen, quienes de alguna manera aportaron algo positivo a este proyecto. En especial al JantoTeam: Manuel (Sr. Aplysino), Ramón (Sr. Chondrillo), Jesús (Yisus fugaz), Jannette (Miss Rodolita) y Lili (Miss Tunicata) por todo su apoyo, risas, buenos consejos y por compartir grandes momentos juntos.

A mis asesores, Dr. Juan José Luis Carballo-Cenizo, Dr. Rolando Bastida-Zavala, M. en C. Alejandra Torres Ariño y M.A.I.A Eduardo Ramírez Chávez, por ser mis maestros y por ser parte del comité de mi tesis profesional.

Al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, unidad académica de Mazatlán por darme la oportunidad de realizar mi tesis profesional en sus instalaciones. A los laboratorios Ecología del Bentos y Laboratorio de Genética, por permitir usar las instalaciones. Un especial agradecimiento a la técnico Mary del laboratorio de Genética, por su asesoría, paciencia y apoyo en el uso de los equipos.

A la Universidad del Mar por abrirme las puertas y ser parte de su institución.

Y por supuesto no podría faltar cada uno de mis hermanitos mexicanos: Cindy, Alder, Samy, Adair, Mariela, Pedrito, Hisol, Ivonne, Laurita, Colín, Borre, los mirmidones, los antipery y muchísimos más que, aunque no los nombre (jamás terminaría) siempre están presentes y como decimos en mi tierra, le dan sabor y alegría a mi vida. Infinitamente gracias!

Por último, esta investigación contó con el financiamiento del proyecto PAPIIT-: IA201614. Taxonomía y sistemática integrativa de invertebrados marinos de México, esponjas y tunicados: bases para la elaboración de códigos de barra de ADN. Periodo 2014-2016. También con el apoyo de los proyectos: Nuevas aportaciones a la biodiversidad de esponjas marinas de México: bases para la elaboración de código de barras de ADN, fuente de financiamiento: CONABIO JF193, periodo 2012-2014 y; Consolidación de la biblioteca de código de barras de la biota mexicana, fuente de financiamiento: Proyecto de redes 2009 CONACYT, periodo 2013-2014.

Índice

Resumen	ii
Agradecimientos	iii
Índice	v
Índice de tablas	vii
Índice de figura	viii
Abreviaturas y símbolos	x
1. Introducción	1
2. Antecedentes	4
2.1. Antecedentes de las Suberitidae.....	4
2.2. Suberitidae en el Pacífico Oriental.	6
2.3. Sistemática molecular y código de barras ADN en Suberitidae	7
3. Justificación	9
4. Hipótesis	10
5. Objetivos	11
5.1. Objetivo general.....	11
5.2. Objetivos específicos	11
6. Materiales y métodos	12
6.1. Área de estudio	12
6.2. Procedencia del material examinado	12
6.3. Muestreos.....	15
6.4. Tratamiento de las muestras en el laboratorio	16
6.5. Revisión morfológica (taxonomía tradicional)	16
6.5.1. Estudio del material esquelético: Técnica de preparación de elementos esquelético.....	16
6.5.2. Técnica para el estudio de la estructura esquelética	17
6.5.3. Análisis taxonómico y secuencia de descripción de las especies	19
6.5.4. Distribución geográfica de la familia Suberitidae en el Pacífico mexicano.	20
6.6. Extracción de ADN, amplificación y secuenciación de fragmentos de ADN (taxonomía molecular)	20
6.6.1. Extracción de ADN.....	20
6.6.2. Amplificación del fragmento de ADN (código de barras de ADN)	22
6.6.3. Análisis de las secuencias de ADN	23
7. Resultados	24
7.1. Taxonomía y descripción morfológica de la familia Suberitidae	24

7.2.	Listado taxonómico de las especies	24
7.3.	Descripción de las especies.....	25
	Orden Suberitida Chombard & Boury-Esnault, 1999.....	25
	Familia Suberitidae Schmidt, 1870.....	25
	Género <i>Aaptos</i> Gray, 1867.....	25
	<i>Aaptos</i> sp. nov. 1.....	26
	<i>Aaptos</i> sp. nov. 2.....	29
	<i>Aaptos</i> aff. <i>niger</i> (Hoshino 1981)	31
	Género <i>Prosuberites</i> Topsent, 1893	35
	<i>Prosuberites</i> sp. nov.....	35
	Género <i>Pseudosuberites</i> Topsent, 1869.....	41
	<i>Pseudosuberites</i> sp. nov.....	41
	Género <i>Suberites</i> (Nardo 1833)	44
	<i>Suberites</i> sp. nov.	44
	<i>Suberites aurantiacus</i> (Duchassaing & Michelotti 1864).....	47
	<i>Suberites mineri</i> (de Laubenfels, 1935)	52
	Género <i>Terpios</i> Dussachaing & Michelotti, 1864	56
	<i>Terpios</i> sp. nov. 1.....	57
	<i>Terpios</i> sp. nov 2.....	59
	<i>Terpios</i> aff. <i>fugax</i> Dussachaing & Michelotti, 1864.....	61
7.4.	Taxonomía molecular y obtención de secuencias de ADN	68
7.4.1.	Extracción de ADN.....	68
7.4.2.	Amplificación de los marcadores mitocondriales y nucleares (COI y 28S). 68	
7.4.3.	Análisis de las secuencias.....	70
7.4.4.	Alineamiento y análisis del locus mitocondrial (COI).....	71
7.4.5.	Alineación y análisis del gen ribosomal 28S.....	72
8.	Discusión	76
8.1.	Biodiversidad de Suberitidae en el Pacífico mexicano.....	76
8.2.	Taxonomía tradicional en Suberitidae.	78
8.3.	Sistemática de esponjas Suberitidae	80
8.4.	Taxonomía integrativa.	82
9.	Conclusiones	84
10.	Referencias	86

Índice de tablas

Tabla	Página
I. Localización geográfica de los sitios de muestreo de esponjas de la familia Suberitidae en el Pacífico mexicano.....	14
II. Listado de cebadores para secuenciación de ADN.....	22
III. Comparación de las características de especies del género de <i>Aaptos</i>	34
IV. Comparación del tamaño de las espículas de <i>Prosuberites</i> sp. nov. con respecto a otras especies del género	40
V. Comparación del tamaño de las espículas de <i>Pseudosuberites</i> sp. nov. con respecto a otras especies del género.....	44
VI. Comparación del tamaño de las espículas de las espículas de <i>Suberites</i> sp. nov. con respecto a <i>S. aurantiacus</i>	47
VII. Comparación del tamaño de las espículas de algunos ejemplares de <i>S. aurantiacus</i> recolectados en este trabajo.....	52
VIII. Comparación del tamaño (µm) de las espículas de <i>Suberites mineri</i> con respecto a otras especies del género.....	56
IX. Comparación de las características de <i>Terpios fugax</i> con respecto a otros trabajos.....	64
X. Perfiles estandarizados de amplificación de ADN empleados para PCR.....	68

Índice de figuras

	Página
Figura 1. Área de estudio.....	13
Figura 2. Esquema simplificado de análisis morfológicos.....	18
Figura 3. Esquema simplificado de los análisis moleculares.....	23
Figura 4. Espículas de <i>Aaptos</i> sp. nov. 1.....	26
Figura 5. Distribución de <i>Aaptos</i> sp. nov. 1 en el Pacífico mexicano.....	27
Figura 6. Espículas de <i>Aaptos</i> sp. nov.2.....	29
Figura 7. Distribución de <i>Aaptos</i> sp. nov. 2 en el Pacífico mexicano.....	30
Figura 8. Espículas de <i>Aaptos</i> aff. <i>niger</i>	32
Figura 9. Distribución de <i>Aaptos</i> aff. <i>niger</i> en el Pacífico mexicano.....	33
Figura 10. Tilostilos de <i>Prosuberites</i> sp. nov.....	37
Figura 11. Distribución de <i>Prosuberites</i> sp. nov.....	38
Figura 12. Tilostilos de <i>Pseudosuberites</i> sp. nov.....	41
Figura 13. Distribución de <i>Pseudosuberites</i> sp. nov.....	42
Figura 14. Tilostilos de <i>Suberites</i> sp. nov.....	45
Figura 15. Distribución de <i>Suberites</i> sp. nov. en el Pacífico mexicano.....	46
Figura 16. Tilostilos de <i>Suberites aurantiacus</i>	49
Figura 17. Distribución de <i>S. aurantiacus</i> en el Pacífico mexicano.....	51
Figura 18. Espículas de <i>S. mineri</i>	54
Figura 19. Distribución de <i>S. mineri</i> en el Pacífico mexicano.....	59
Figura 20. Tilostilos de <i>Terpios</i> sp. nov. 1.....	57
Figura 21. Distribución de <i>Terpios</i> sp. nov. 1 en el Pacífico mexicano.....	58
Figura 22. Tilostilos de <i>Terpios</i> sp. nov. 2.....	59
Figura 23. Distribución de <i>Terpios</i> sp. nov. 1 en el Pacífico mexicano.....	60
Figura 24. Tilostilos de <i>Terpios</i> sp. nov. 2.....	61
Figura 25. Distribución de <i>Terpios</i> aff. <i>niger</i> en el Pacífico mexicano.....	62
Figura 26. Electroforesis en gel de agarosa de extracción de ADN de esponjas Suberitidae.....	68
Figura 27. Amplificación de ADN de individuo de <i>Aaptos</i>	69

Figura 28. Cromatograma de una secuencia (editada) para el fragmento Citocromo c oxidasa.....	70
Figura 29. Árbol de máxima verosimilitud correspondiente al fragmento mitocondrial COI.....	74
Figura 30. Árbol taxonómico del locus 28S.....	75
Figura 31. Relación de especies de esponjas de la familia Suberitidae en principales regiones del mundo y la zona de estudio (Pacífico mexicano).....	77
Figura 32. Número de especies por géneros.....	78

Abreviaturas y símbolos

Instituciones

ICML	Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM
LEB	Laboratorio de Ecología de Bentos, UNAM, unidad academica Mazatlán
LSEM	Laboratorio de Sistemática y Ecología Molecular, UNAM, unidad academica Mazatlán
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales

Símbolos y texto

aff.	afín
COI	citocromo c oxidasa
<i>et al.</i>	y colaboradores
pb	pares de bases
MV	Máxima verosimilitud
POT	Pacífico oriental tropical
PM	Pacífico mexicano
WPD	World Porifera Database