

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
E. A. P. DE GENÉTICA Y BIOTECNOLOGÍA

Genómica evolutiva de *Bostryx aguilari* (Gastropoda :

TESIS para optar el título profesional de Biólogo Genetista Biotecnólogo

AUTOR

Jorge Luis Ramírez Malaver

ASESOR Rina Lastenia Ramírez Mesías

Lima-Perú 2009

..	1
Agradecimientos .	3
Resumen .	5
Abstract . .	7
Introducción .	9
Texto completo . .	11

Dedicatoria A Dios, a mis padres y a mis hermanas Por su apoyo y comprensión.

Agradecimientos

A la Dra. Rina Ramírez por permitirme realizar esta tesis y transmitirme sus valiosos conocimientos, por sus consejos y apoyo.

A mis amigos y compañeros en el Laboratorio de Sistemática Molecular y Filogeografía, a Ana, Carlos, Daniel, Jenny, Norma, Pavel y Pedro por toda la ayuda brindada.

Al profesor Pablo Ramírez y a todos los profesores del Laboratorio de Microbiología Molecular quienes me permitieron el uso de sus equipos, por su paciencia, gracias.

A los chicos del Laboratorio de Microbiología Molecular por todas aquellas veces que se quedaron un poco más tarde esperándonos, por todo, gracias: Julio, "Guti", Marco, Michael, Ruth y Yanina.

A mi primo Marcos quien siempre me apoyó y confió en que esta tesis iba a ser posible a pesar de la dificultad y el costo de trabajar en biología molecular en el Perú.

A las instituciones que ayudaron con el financiamiento de esta tesis, al Instituto de Investigación en Ciencias Biológicas Antonio Raimondi (ICBAR) y al Vicerrectorado Académico de la UNMSM.

A mi Universidad, San Marcos, a mi facultad, Ciencias Biológicas y a mi escuela, Genética y Biotecnología de la cual me siento muy orgulloso, formando parte de la primera promoción y en la cual dejo sembradas mis esperanzas.

A mis profesores quienes me inculcaron el espíritu de la investigación y brindaron sus conocimientos de la forma más desinteresada.

A mis padres y a mis hermanas porque sé todos los sacrificios que más de una vez tuvimos que hacer para alcanzar nuestras metas.

Resumen

Las lomas son ecosistemas estacionales que se encuentran en la costa peruana. Dentro de las especies endémicas de moluscos de lomas podemos encontrar a *Bostryx aguilari* (Mollusca, Gastropoda, Orthalicidae), reportada para lomas cercanas a la ciudad de Lima. La información brindada por los genomas, como el ADN mitocondrial, se ha convertido en el componente clave para desarrollar estudios de filogenias y conservación. En el presente trabajo se realizó una evaluación de la evolución de esta especie a nivel de su genoma. Se realizaron distintas colectas y se procedió a la extracción del ADN por medio del método del CTAB con separación cloroformo: alcohol isoamílico y precipitación con etanol. Se amplificaron dos marcadores mitocondriales (COI y 16S rRNA) y un marcador nuclear (rRNA). Se secuenciaron los mejores productos de amplificación. Se procedió a realizar una caracterización genómica por marcador así como la evaluación de la diversidad genética encontrada. Para la reconstrucción filogenética se utilizaron distintas secuencias de Orthalicidos obtenidos por diversos proyectos de investigación así como de la base de datos del GenBank. Se construyeron árboles filogenéticos mediante los métodos de Neighbor-Joining, Máxima Parsimonia, Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana. Las distintas extracciones realizadas mostraron una baja en la eficiencia de esta técnica, en especial por la dificultad para separar los pigmentos propios de *B. aguilari*. Se realizó un total de 80 extracciones. Fueron obtenidas 11 secuencias de distintas poblaciones para el marcador 16S rRNA, cuatro para el marcador COI y cuatro para el gen rRNA nuclear. La caracterización genómica mostró valores cercanos a otros Orthalicidos. La diversidad genética encontrada fue menor a la esperada. *B. aguilari* es una especie bien diferenciada y conforma un grupo natural en todos nuestros análisis. La

población de Atocongo se mostró ligeramente más diferenciada del resto. Las relaciones evolutivas de *B. aguilari* dentro de la familia Orthalicidae la mostraron como especie más emparentada a *B. conspersus* y *S. versicolor*. Al contrario de lo esperado, el género *Bostryx* conformó un grupo polifilético. El marcador COI mostró ser eficiente como un código de barras de *B. aguilari*. Toda la evidencia molecular presentada, sumada a la evidencia conquiológica y morfológica, nos lleva a concluir que *B. aguilari* no formaría parte del género *Bostryx*, sino más bien de un nuevo género. Posteriores estudios donde se incluyan un mayor número de especies podría conducirnos a aclarar sus relaciones evolutivas dentro de la familia Orthalicidae.

Abstract

Lomas are seasonal ecosystems occurring in the Peruvian coast. *Bostryx aguilari* (Mollusca, Gastropoda, Orthalicidae) is an endemic land snail which lives in Lomas from Lima. Genomic information (for example mitochondrial genome) has become a key factor to develop both phylogenetic and conservation studies. The present work is an evaluation of the genomic evolution of *B. aguilari*. Land snails were collected and DNA was isolated using CTAB method. The mitochondrial markers both Cytochrome oxidase I (COI) and 16S rRNA as well as the rRNA nuclear markers were amplified and sequenced. The three markers were used for genomic characterization and the evaluation of genetic diversity. Phylogenetic reconstruction was carried out also using sequences of other nine Orthalicid species and ten species retrieved from the GenBank. The phylogenetic trees were constructed with Neighbor-Joining, Maximum Parsimony, Maximum Likelihood and Bayesian Inference. DNA was difficult to amplify probably due to pigments in the muscle tissue of the snail foot. From the 80 extractions, eleven sequences of 16S rRNA from different populations of *B. aguilari* were obtained, four of COI and four of nuclear rRNA. The genomic characterization showed similar values with other species of the Family Orthalicidae. Genetic diversity showed low values. *B. aguilari* showed high differentiation from other Orthalicids and conformed a natural group. *B. aguilari* is more related to *B. consperus* and *S. versicolor* than to other members of the Family Orthalicidae. Surprisingly, the genus *Bostryx* showed a polyphyletic pattern. The COI marker is an efficient barcode for *B. aguilari*. Molecular and morphological evidence lead us to conclude a *B. aguilari* does not belong to the genus *Bostryx*. *B. aguilari* would be a new genus. It is necessary more studies including more species to solve the evolutionary

relationships within the Family Orthalicidae.

Introducción

Las lomas son ecosistemas estacionales que se encuentran en la costa peruana y chilena entre los 8° y 30° LS (Rundel et al., 1990) cuya principal fuente de humedad son las nieblas advectivas provenientes del océano (Dillon et al., 2003). El clima de las lomas es estacional, con una "época húmeda" cuyo pico va de fines de julio a mediados de septiembre, que favorecen el desarrollo de una vegetación particular. Por el contrario, en el verano la precipitación es escasa y se presentan las mayores temperaturas por lo que se conoce a este periodo como "época seca" cuyo pico va de diciembre a abril (Saito, 1976; Torres, 1985). Los eventos "El Niño" cambian esta estacionalidad debido a las garúas de verano, las que favorecen el desarrollo de vegetación en ese período (Pinche, 1994). Las formaciones de lomas ocurren en discretas comunidades de islas de vegetación separadas por un territorio muy árido desprovisto de vida vegetal. En ellas se pueden encontrar especies de plantas, aves, reptiles, caracoles, líquenes, etc., que nos dan una idea de la gran biodiversidad que nos presenta este tipo de ecosistema (Aguilar, 1985; Ono, 1986).

Los moluscos terrestres son elementos conspicuos de la fauna de lomas siendo la familia Orthalicidae la más diversa, con los géneros *Bostryx* y *Scutalus*, los cuales están adaptados para sobrevivir bajo las condiciones climáticas presentes en el ecosistema. *Bostryx* es la más especiosa (*B. aguilari*, *B. modestus*, *B. sordidus*, *B. scalariformis*), en cuanto que *Scutalus* presenta tan sólo dos especies (*S. proteus* y *S. versicolor*) (Aguilar & Arrarte, 1974; Ramírez R., 2004).

De estas especies, *Bostryx aguilari* Weyrauch, 1967 (anexo 1) ha sido reportada

originalmente para las lomas de Amancaes, y algunas lomas de Atocongo y Pachacamác. También se ha hecho referencia de la procedencia de muestras de esta especie colectadas en el Perú interandino, en una localidad cercana al pueblo de Junín (Weyrauch, 1967). Ahora se sabe que está también en otras lomas de Lima (Ramírez R., 2004). Un análisis morfométrico de las conchillas correspondientes a todas las poblaciones de *Bostryx aguilari* conocidas, mostró diferencias entre la forma y consistencia de la conchilla, aparentemente debido a factores ecológicos (Ramírez R. et al., 2005).

Texto completo

Consultar texto completo en formato PDF en la dirección:

http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2009/ramirez_mj/pdf/ramirez_mj.pdf