

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**ESCUELA DE POST GRADO**

**MAESTRÍA EN ECOLOGÍA APLICADA**



**“ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE *Macrocystis spp.*  
(Laminariales) EN LA COSTA CENTRO SUR DEL PERÚ, EMPLEANDO  
MARCADORES MITOCONDRIALES”**

**Presentado por:**

**ERIKA ALEXANDRA SALAVARRÍA PALMA**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE**

**MAGISTER SCIENTIAE EN ECOLOGÍA APLICADA**

**Lima - Perú**

**2014**

## RESUMEN

Las macroalgas pardas son consideradas recursos hidrobiológicos con una significativa importancia ecológica, económica y social. Numerosos pescadores, en el sur de Perú y norte de Chile dependen de la recolección y cosecha de estos recursos para su sustento. Regulaciones Ministeriales establecen vedas que prohíben la actividad extractiva de macroalgas pardas; dada la deficiente recuperación en las poblaciones y extracción de ejemplares adultos. Estudios moleculares recientes en costa Sudamericana han determinado que *Macrocystis* tiene muy poca variabilidad genética, aunque muestras obtenidas en dos localidades de Perú presentan un patrón genético distinto. Se realizó colectas en el Callao, Ica y Arequipa, tomando un promedio de 10 individuos en 8 localidades muestreadas, para la extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación, usando marcadores mitocondriales ITS y COI. Los resultados indicaron que *Macrocystis pyrifer* y *M. integrifolia* son una misma especie, la estructura genética de las poblaciones muestreadas de *Macrocystis* mostró una baja variabilidad genética y sugieren que estos ecomorfos provienen de un antecesor en común (Mpyr1). De acuerdo con los análisis de las secuencias, las muestras presentaron baja diversidad haplotípica entre  $H_e = 0,500 - 0,800$  y  $\pi = 0,00253 - 0,00458$  y alto flujo de genes. Este estudio encontró haplotipos más frecuentes en las localidades de Bahía Independencia, San Juan de Marcona y Callao. Aunque los resultados obtenidos con COI asumen un alto número de haplotipos, probablemente a la deficiente calidad de las secuencias obtenidas. No obstante, permitió observar la utilidad de este marcador. Finalmente, se obtuvo dos nuevos y únicos haplotipos correspondientes a poblaciones en San Juan de Marcona y Callao, estos datos proporciona información útil e importante a nivel molecular para la aplicación de estrategias en el manejo y conservación del recurso *Macrocystis* en el Perú.

**Palabras claves:** *Macrocystis pyrifer*, Haplotipo, Variabilidad genética.

## INDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1 ASPECTOS GENERALES DEL ALGA PARDA <i>MACROCYSTIS</i> .....	4
2.1.1. TAXONOMÍA DE <i>MACROCYSTIS</i> (Linnaeus) C. AGARDH 1820.....	4
2.1.2. DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DEL ALGA PARDA <i>MACROCYSTIS</i> ..	7
2.2. ASPECTOS REPRODUCTIVOS.....	9
2.3. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	9
2.4. ASPECTOS ECOLÓGICOS.....	11
2.4.1. SISTEMA DE CORRIENTES PERUANAS.....	12
2.4.2. EVENTOS: EL NIÑO OSCILACIÓN SUR (ENOS) Y LA NIÑA.....	15
2.4.3. RELACIÓN DE <i>MACROCYSTIS</i> CON LOS PARÁMETROS.....	17
2.5. ASPECTOS ECONÓMICOS DE <i>MACROCYSTIS</i> .....	18
2.5.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE <i>MACROCYSTIS</i> EN EL PERÚ.....	20
2.6. ESTUDIOS POBLACIONALES DE MACROALGAS PARDAS.....	21
2.7. FILOGENIA MOLECULAR.....	24
2.8. DIVERSIDAD GENÉTICA.....	26
2.8.1. MIGRACIÓN O FLUJO GÉNICO.....	27
2.8.2. MUTACIÓN.....	27
2.8.3. SELECCIÓN.....	27
2.8.4. DERIVA GÉNICA DENTRO DE SUBPOBLACIONES (ENDOGAMIA).....	28

2.8.5. DERIVA GÉNICA ENTRE POBLACIONES: ESTADÍSTICO F DE WRIGHT.....	28
2.8.6. DISTANCIA GENÉTICA.....	28
2.8.7. REPRESENTACIONES <i>NETWORK</i> .....	29
2.8.8. HISTORIA DEMOGRÁFICA.....	29
2.9 TÉCNICAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA.....	30
2.10 MARCADORES MOLECULARES: ADN MITOCONDRIAL ADN <sub>mt</sub> .....	31
2.11. MARCADORES MITOCONDRIALES EN MACROALGAS.....	34
2.12. ESTUDIOS GENÉTICOS CON MARCADORES MITOCONDRIALES EN <i>MACROCYSTIS</i> .....	36
<b>III. MATERIALES Y METODOLOGÍA</b>	
3.1. ÁREA DE ESTUDIO.....	38
3.1.1. SITIOS DE MUESTREO Y COLECTA.....	39
3.1.2. CONSERVACIÓN Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS.....	40
3.2. ANÁLISIS EN LABORATORIO.....	41
3.2.1. EXTRACCIÓN DE ADN.....	41
3.2.2. REACCIÓN EN CADENA POLIMERASA (PCR).....	42
3.2.3. SECUENCIAMIENTO DEL ADN.....	43
3.3. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO.....	43
3.3.1. EDICIÓN Y ALINEAMIENTO MÚLTIPLE DE SECUENCIAS.....	44
3.3.2. CARACTERIZACIÓN DE SECUENCIAS.....	45
3.3.3. DIVERSIDAD GENÉTICA.....	44
3.3.4. REDES DE HAPLOTIPOS ( <i>NETWORKS</i> ).....	45
3.3.5. HISTORIA DEMOGRÁFICA.....	46
3.3.6. DISTANCIA GENÉTICA.....	46

<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>47</b>
<b>4.1. ANÁLISIS DEL MARCADOR MITOCONDRIAL atp8-S.....</b>	<b>47</b>
<b>4.1.1. DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS OBTENIDAS.....</b>	<b>47</b>
<b>4.1.2. ALINEAMIENTO MÚLTIPLE DE SECUENCIAS.....</b>	<b>47</b>
<b>4.1.3. DIVERSIDAD GENÉTICA.....</b>	<b>49</b>
<b>4.1.4. REDES DE HAPLOTIPOS.....</b>	<b>51</b>
<b>4.1.5. HISTORIA DEMOGRÁFICA.....</b>	<b>55</b>
<b>4.1.6. DISTANCIA GENÉTICA.....</b>	<b>59</b>
<b>4.2. ANÁLISIS DEL MARCADOR MITOCONDRIAL CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD I (COI).....</b>	<b>60</b>
<b>4.2.1. DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS OBTENIDAS.....</b>	<b>60</b>
<b>4.2.2. ALINEAMIENTO MÚLTIPLE DE SECUENCIAS.....</b>	<b>60</b>
<b>4.2.3. DIVERSIDAD GENÉTICA.....</b>	<b>61</b>
<b>4.2.4. RED DE HAPLOTIPOS (NETWORKS).....</b>	<b>63</b>
<b>V. DISCUSIONES.....</b>	<b>65</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>67</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>68</b>
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>70</b>
<b>IX. ANEXOS.....</b>	<b>93</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Ubicación geográfica de los sitios de colecta.....	39
<b>Cuadro 2.</b> Distancia lineal en kilómetros entre los sitios de colecta.....	40
<b>Cuadro 3.</b> Diversidad haplotípica y nucleotídica con atp8-S.....	50
<b>Cuadro 4.</b> Distribución de los haplotipos con atp8-S de <i>Macrocystis pyrifer</i> a y <i>M. integrifolia</i> en las localidades y sitios muestreados en el centro y sur del Perú.....	50
<b>Cuadro 5.</b> Relación directa entre la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ), número de sitios polimórficos (S) y los valores de diferencia a pares (k).....	55
<b>Cuadro 6.</b> Relación directa entre los estimadores de las poblaciones agrupadas por regiones geográficas analizadas con el marcador mitocondrial atp8-S.....	55
<b>Cuadro 7.</b> Valores de Tajima (D) y Fu (Fs) de las poblaciones de <i>Macrocystis pyrifer</i> a y <i>M. integrifolia</i> de acuerdo a la región geográfica.....	56
<b>Cuadro 8.</b> Diversidad haplotípica y nucleotídica con COI.....	61
<b>Cuadro 9.</b> Distribución de los haplotipos con COI de <i>Macrocystis pyrifer</i> a y <i>M. integrifolia</i> en las localidades y sitios muestreados en el centro y sur del Perú.....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representación esquemática del ADN mitocondrial.....	32
<b>Figura 2.</b> Primera porción del alineamiento múltiple de secuencias con atp8-S.....	48
<b>Figura 3.</b> Sitios polimórficos de la primera porción del alineamiento múltiple de secuencias con atp8-S.....	49
<b>Figura 4.</b> Red de haplotipos para localidades del Perú con marcador mitocondrial atp8-S.....	51
<b>Figura 5.</b> Mapa del Perú mostrando los haplotipos y la localización de los sitios de colecta.....	52
<b>Figura 6.</b> Red de haplotipos para las localidades de la costa sudeste del Pacífico, Centro y Sur del Perú, con el marcador mitocondrial atp8-S.....	53
<b>Figura 7.</b> Mapa de la distribución global de los haplotipos con la localización de los sitios de colecta.....	54
<b>Figura 8.</b> Curvas de distribuciones pareadas o <i>mismatch distributions</i> del marcador atp8-S para las poblaciones de (a) <i>Macrocystis pyrifera</i> y (b) <i>M. integrifolia</i> .....	56
<b>Figura 9.</b> Curvas de distribución a pares con atp8-S en las zonas geográficas: a. Centro y sur del Perú (poblaciones muestreadas para este estudio), b. Perú (incluye las poblaciones de Atico y Paracas), c. Costa Sudeste del Pacífico SEP (poblaciones del centro y Sur del Perú).....	57
<b>Figura 10.</b> Comparación de las condiciones climáticas y posible evento de expansión súbita de las poblaciones de <i>Macrocystis</i> pertenecientes a la Costa sudeste del Pacífico (incluye poblaciones del centro y sur del Perú).....	58
<b>Figura 11.</b> Primera región del alineamiento múltiple de secuencias con COI.....	61
<b>Figura 12.</b> Red de haplotipos de <i>Macrocystis</i> para las localidades del Perú con el marcador mitocondrial COI.....	63

**Figura 13.** Red de haplotipos de *Macrocystis* de distribución mundial comparada con haplotipos del centro y sur del Perú, empleando marcador mitocondrial COI.....64

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO 1.</b> Ubicación geográfica de las localidades de muestreo. Escala 1:2'500.000.....	93
<b>ANEXO 2.</b> Localidades de muestreo ubicadas en la zona costera centro – sur del Perú...	94
<b>ANEXO 3.</b> Sitios de muestreo.....	95
<b>ANEXO 4.</b> Códigos y localidades muestreadas.....	96
<b>ANEXO 5.</b> Rizoides (a) <i>Macrocystis pyrifer</i> a (b) <i>Macrocystis integrifolia</i> . Aerocistos y frondas de (a) <i>Macrocystis pyrifer</i> a (b) <i>Macrocystis integrifolia</i> .....	97
<b>ANEXO 6.</b> Protocolo de muestreo para <i>Macrocystis</i> .....	98
<b>ANEXO 7.</b> Método de extracción CTAB (Bromuro de Cetil Trimetil Amonio) adaptado por Zuccarello y Lokhorst, 2005.....	99
<b>ANEXO 8.</b> Lecturas de las absorbancias en las muestras de ADN en el espectrofotómetro Nanodrop (ND 1000) a 230, 260 y 280 nm.....	100
<b>ANEXO 9.</b> Descripción del <i>Master Mix</i> empleado en la PCR para la Amplificación del ADN.....	101
<b>ANEXO 10.</b> Secuencias con el marcador atp8-S de <i>Macrocystis spp.</i> comparadas con secuencias registradas en el <i>GenBank</i> .....	102
<b>ANEXO 11.</b> Matriz de Distancia genética con el marcador mitocondrial atp8-S de las poblaciones del centro y sur del Perú.....	104
<b>ANEXO 12.</b> Secuencias con el marcador mitocondrial COI de <i>Macrocystis spp.</i> comparadas con secuencias reportadas en el <i>GenBank</i> .....	106