

Resumen

En este trabajo se han analizado las secuencias repetidas en diferentes especies de corales, *Savalia savaglia* y tres morfotipos de la especie *Parazoanthus axinellae* que forman parte de un ecosistema importante, a la vez que vulnerable, del Mar de Alborán.

Introducción

Los arrecifes coralinos se encuentran entre los ecosistemas más importantes del Mar de Alborán debido a la gran diversidad de especies que albergan y a los procesos ecológicos de los que forman parte^{1,2}. Dentro de la familia Parazoanthidae se encuentran el conglomerado de especies *Parazoanthus axinellae* (Schmidt, 1862) y *Savalia savaglia* (Bertoloni, 1819) (Fig. 1-4), que son de los componentes más comunes de los arrecifes coralinos del Mediterráneo. Su elevada plasticidad morfológica ha derivado en incertidumbres taxonómicas. Por lo tanto, la caracterización genética de estas especies y sus morfotipos es crucial para cuantificar la biodiversidad y realizar tareas de conservación.



Fig. 1: *P. axinellae* morfotipo "stocky".
Foto Alfredo Rosales Ruiz



Fig. 2: *P. axinellae* morfotipo "slender".
Foto Alfredo Rosales Ruiz

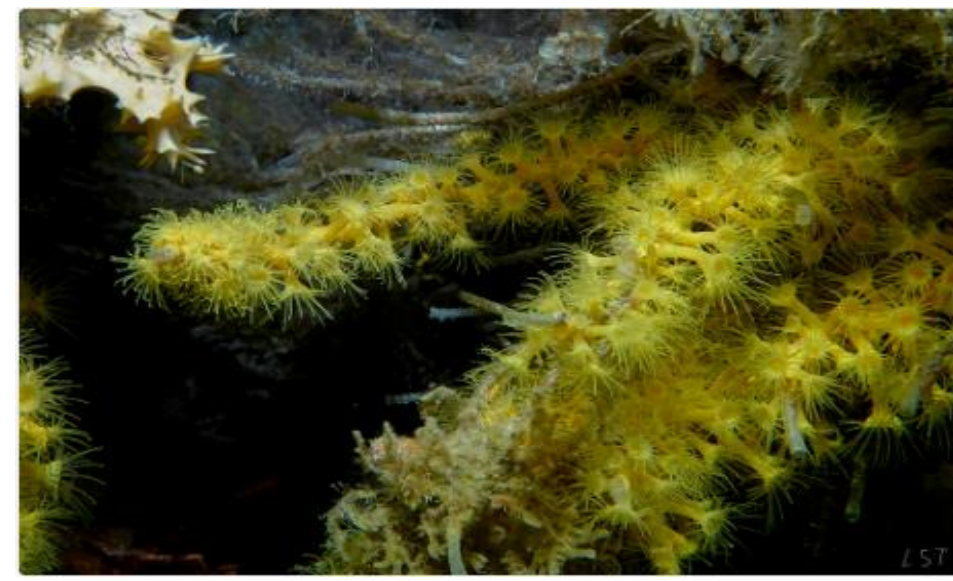


Fig. 3: *P. axinellae* morfotipo "granatensis".
Foto Luis Sánchez Tocino



Fig. 4: *Savalia savaglia*.
Foto Luis Sánchez Tocino

Materiales y Métodos

Las muestras fueron tomadas por el equipo de buceo del Aula del Mar de la Universidad de Granada, en diferentes localizaciones del mar de Alborán: "stocky" y "slender" en Ensenada de los Berengueles (Almuñécar, Granada); "granatensis" en La Cueva de Cantarrián (Almuñécar, Granada) y *S.savaglia* en las Islas Chafarinas. Con el ADN extraído se realizó una secuenciación Illumina HiSeq 2000 (Macrogen, Korea). Para la detección de las secuencias repetidas y su comparación se utilizó el software RepeatExplorer2³. Además, para la caracterización del conjunto de las secuencias satélites se ha seguido el protocolo satMiner⁴ que se basa en un filtrado inicial de las lecturas y varias rondas de detección de elementos repetidos con una muestra aleatoria, eliminando en cada ronda las lecturas que tuvieran homología con clusters previos y duplicando el número de lecturas utilizadas hasta no obtener más clusters de ADN satélite.

Resultados y Discusión

En cuanto al análisis de secuencias repetidas, en la Fig. 5 (A-D) se muestra el porcentaje del genoma que ocupan en los distintos morfotipos. Así, el ADN repetido se corresponde con el 34% del genoma de "stocky", el 29% de "slender", el 29% de "granatensis" y del 27% en *S.savaglia*. Podemos observar un valor ligeramente superior en el caso de "stocky" en comparación con el resto de morfotipos, esto está correlacionado positivamente con la proporción de LINE en el genoma, encontrándose un mayor porcentaje en "stocky"(10%). En todos los casos muestran valores inferiores a los encontrados en otros corales (41.2% en *Pocillopora verrucosa*⁵).

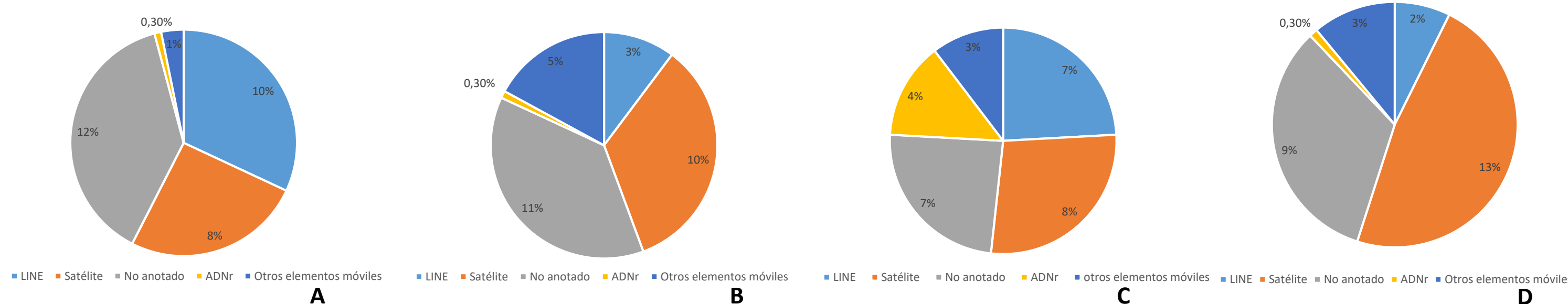


Fig. 5: Diagrama de los elementos caracterizados por RepeatExplorer sobre las lecturas de *P. axinellae* morfotipo "stocky" (A), "slender" (B), "granatensis" (C) y *S.savaglia* (D).

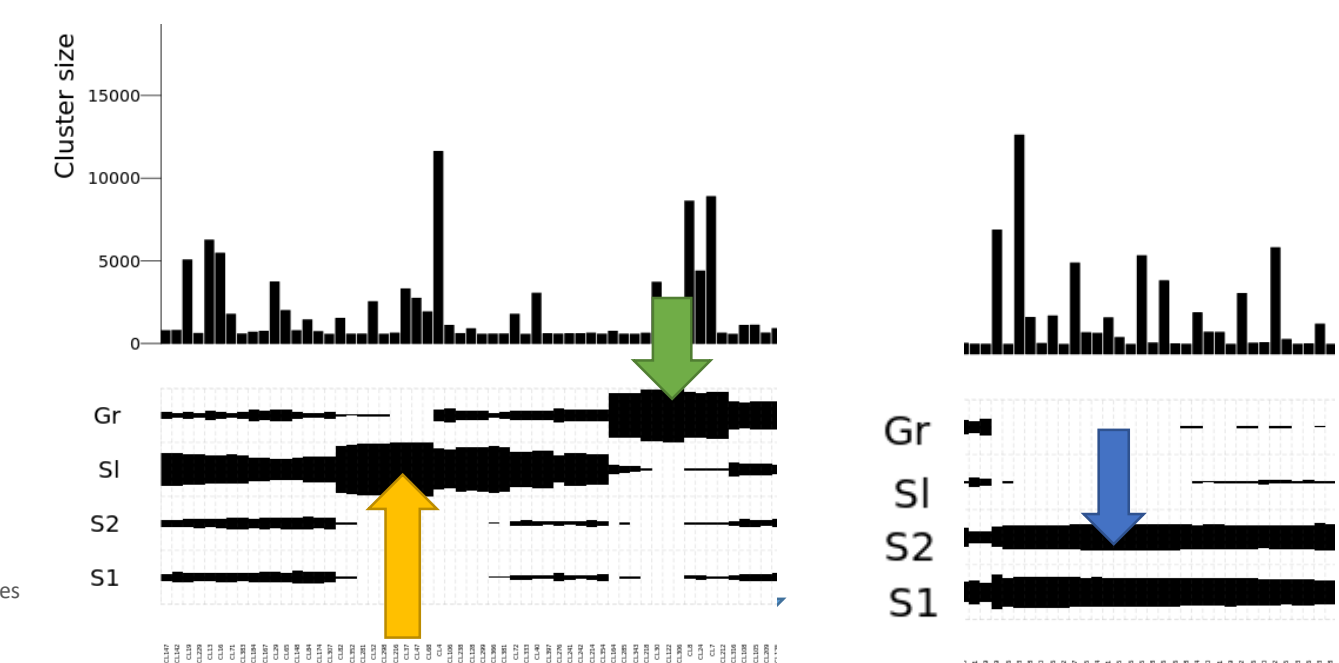


Fig. 6. Gráfico que se muestra el cluster 47 exclusivo de "slender" (flecha amarilla) y el cluster 122 exclusivo de "granatensis" (flecha verde).

Fig. 7. Gráfico que muestra el cluster 17, exclusivo de "stocky" (flecha azul).

También encontramos un porcentaje elevado de secuencias de ADN satélite (Fig.5 A-D). El análisis de estas secuencias revelaron clusters exclusivos en cada uno de los morfotipos. Así, el cluster 47 de "slender" muestra 2700 secuencias frente a las cero de "stocky" y "granatensis" y el cluster 122 de "granatensis" muestra 832 secuencias frente a las cero de "stocky" y "slender" (Fig.6); el cluster 17 de "stocky" muestra 2929 secuencias, frente a 1 en "slender" y cero en "granatensis" (Fig.7). La presencia de secuencias exclusivas de ADN repetido en cada morfotipo podría servir como marcador taxonómico, como ocurre con los corales del género *Acropora*, donde la presencia de una familia de ADN satélite se ha utilizado para diferenciar siete especies⁶. También se ha analizado el bloque ribosómico 45S, que se encuentra repetido en tándem en la mayoría de los organismos eucariotas y en este caso supone un máximo y un mínimo entre el 4% y el 0,3% del total de secuencias en el morfotipo "granatensis" y "slender" respectivamente. El análisis de distancias de la región ITS1 e ITS2 en el trabajo de Chil-Gómez (2021)⁷ mostraba menor grado de diferenciación entre los morfotipos "slender" y "granatensis" (0,18) que cuando se comparaba "stocky" con "slender" (0,207) o "stocky" con "granatensis" (0,252); proponiendo así al morfotipo stocky como un taxón diferente a *P.axinellae*. Con las secuencias ITS1 e ITS2 obtenidas en este trabajo, junto con las secuencias del trabajo de Chil-Gómez hemos realizado un árbol de distancias donde se observa que los tres morfotipos se separan en clusters diferentes entre sí. También podemos observar como *S.savaglia* forma un clado diferente a los clados de las especies de *Parazoanthus* (Fig.8).

Conclusiones

- Las secuencias repetidas representan un porcentaje elevado en el genoma de los corales.
- Se han encontrado cluster de ADN satélite exclusivos de cada morfotipo que podrían servir como marcador taxonómico.
- Las secuencias ITS1 e ITS2 presentan un alto grado de diferenciación en el morfotipo "stocky", por lo que podría ser un taxón diferente a *P. axinellae*.

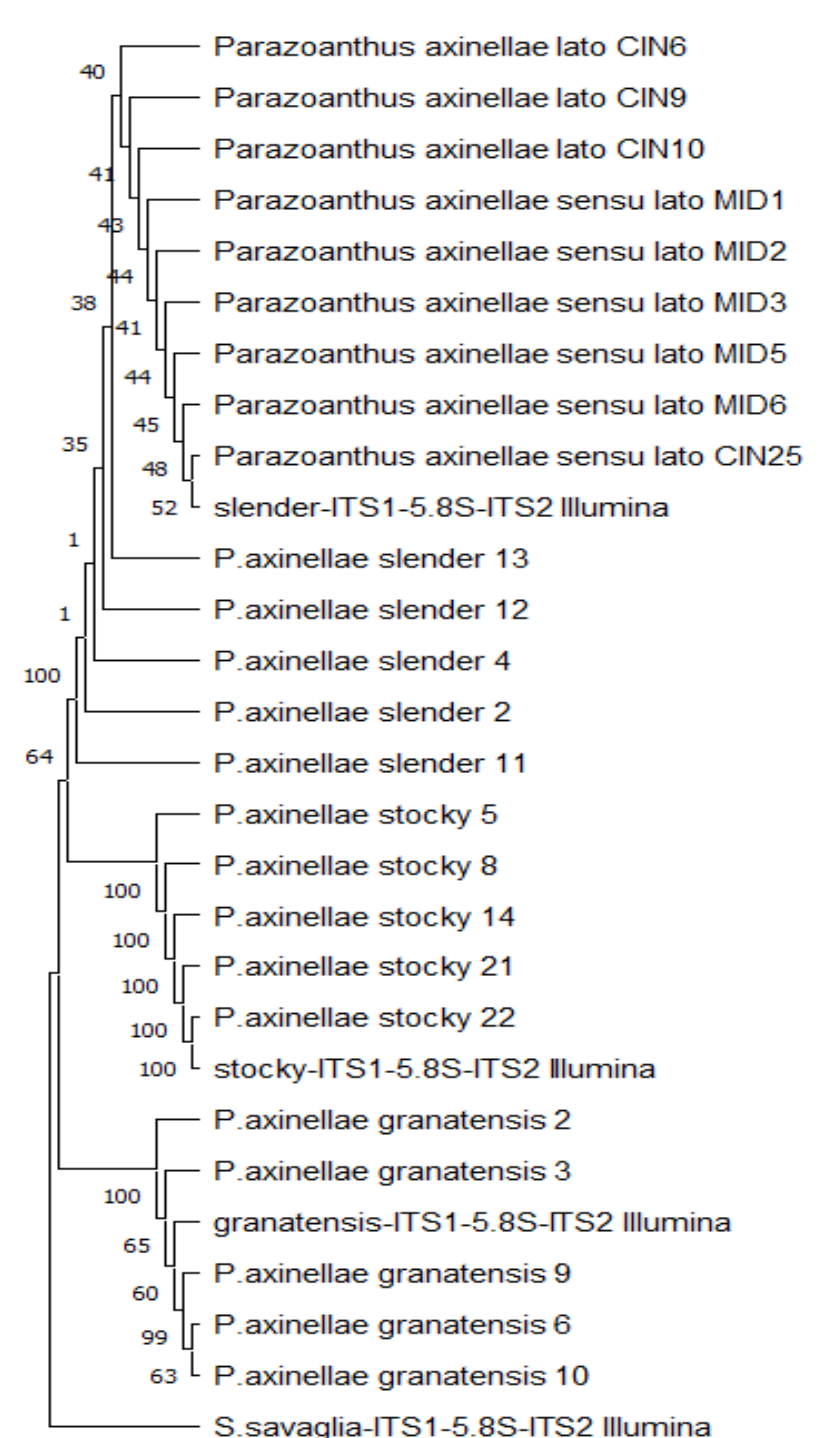


Fig.8 Árbol de distancias ITS donde se observa la separación en diferentes clados de "stocky", "slender", "granatensis" y *S. savaglia*

Referencias

- 1 Giakoumi S, Sini M, Gerovasilieiou V, Mazor T, Beher J, Possingham H P, ... Katsanevakis S. (2013). Ecoregion-Based Conservation Planning in the Mediterranean: Dealing with Large-Scale Heterogeneity. *PLoS ONE*, 8(10).
- 2 Ingresso G, Abbiati M, Badalamenti F, Bavestrello G, Belmonte G, Cannas R, ... Boero F (2018). Mediterranean Bioconstructions Along the Italian Coast. *Advances in Marine Biology* (1st ed., Vol. 79). Elsevier Ltd.
- 3 Novák P, Neumann P and Macas J (2020). Global analysis of repetitive DNA from unassembled sequence reads using RepeatExplorer2. *Nature Protocols*. 15, 3745-3776
- 4 Long EO and Dawid B (1980). Repeated Genes in Eukaryotes. *Annual Review of Biochemistry*. 49, 727-764.
- 5 Buitrago-López C, Mariappan K G, Cárdenas A, Gegner HM and Voolstra C R (2020). The genome of the cauliflower coral *Pocillopora verrucosa*. *Genome Biology and Evolution*, 12, 1911–1917.
- 6 McMillan J, Mahony T, Veron JEN and Miller DJ (1991). Nucleotide sequencing of highly repetitive DNA from seven species in the coral genus *Acropora* (Cnidaria: Scleractinia) implies a division contrary to morphological criteria. *Marine Biology* 110, 323-327
- 7 Chil-Gómez G (2021). Análisis de la variabilidad genética de los morfotipos de *Parazoanthus axinellae* del mar de Alborán. Trabajo Fin de Grado en Biología.

Agradecimientos

Este trabajo se ha financiado con el Proyecto "Estudios ecológicos, evolutivos y medioambientales en *Gerardia savaglia*: una especie bioconstructora coralina y relicta con especial relevancia para la gestión del medio circalitoral". II Convocatoria de Proyectos de Innovación Empresarial con Proyección Territorial. CEI-MAR 2021.