

“SCI AMBIENTAL! Investigando el crimen en el Humedal Angachilla mediante ADN ambiental”

Gustavo Alejandro Vera Burgos ⁽¹⁾

Paola Gabriela Vera Basly ⁽²⁾ Dr. Pablo Sáenz Abudelgo ⁽³⁾ Mg. Cs. Felipe Pontigo ⁽⁴⁾

(1) Autor Escuela Francia Valdivia

(2) Profesor Asesor Escuela Francia Valdivia paola.vera@clubcienciaschile.cl

**(3) Científico Asesor Instituto Ciencias Ambientales y Evolutivas, Facultad Ciencias
Universidad Austral de Chile UACH**

**(4) Científico Asesor Instituto Ciencias Ambientales y Evolutivas, Facultad Ciencias
Universidad Austral de Chile UACH**

Valdivia, Región de los Ríos, Chile

RESUMEN

El aumento de la actividad antrópica ha generado distintos efectos sobre los ecosistemas, uno de ellos es la utilización del espacio de terrenos como los humedales para la construcción de viviendas. Esta situación provoca un efecto en el ambiente y en los animales que comúnmente habitan estos humedales.

Un caso atingente es lo que sucede con el humedal Angachilla, ya que debido al relleno en el humedal con el objetivo de aumentar la construcción de viviendas, ha alterado de tal manera el ecosistema que hace poco probable identificar especies nativas que habitaban el lugar. Por tal motivo, se realizará un monitoreo de la fauna del lugar para evaluar el efecto de la actividad humana.

Una forma de estudiar esto es mediante el ADN ambiental, lo que nos permite identificar de una manera más económica, fácil y rápida las especies que se encuentran presentes en el humedal Angachilla. Para ello se analiza el efecto de la actividad antrópica en el humedal Angachilla realizando un muestreo en dicho humedal y en el humedal Río Cruces, con el fin de comparar un sitio prístino con uno afectado por la actividad humana.

Para esto las muestras de agua, recolectadas de cada humedal, fueron filtradas, posterior a esto se realizó la extracción, amplificación y secuenciación del ADN encontrado. Los datos obtenidos se analizaron mediante Bioinformática, donde se compara con una base de datos de referencia.

Esta información permitió caracterizar y describir las comunidades de ambos sitios de muestreo, realizando una comparación de biodiversidad.

Palabras Clave: ADN Ambiental, humedal, biodiversidad, Río Cruces, ecosistema.

Introducción

La biodiversidad a escala global está sufriendo una disminución a una tasa creciente nunca antes registrada en la historia de nuestro planeta (Pimm *et al.* 1995; IPBES 2019). Esta rápida pérdida está directamente relacionada con la actividad antrópica, asociada a la sobre explotación de recursos naturales (Rosser & Mainka 2002). Los forzantes más importantes incluyen la fragmentación de hábitat por efecto del cambio de uso de suelo (e.g. Cody 1993; Kruess & Tscharnke 1994), la contaminación atmosférica por aumento de las emisiones de carbono y de las aguas por agentes químicos (Zeebe *et al.* 2008; Cardinale *et al.* 2012; Abel 2002), sobreexplotación pesquera (Pauly *et al.* 2002; Rosenberg 2003), y la introducción de especies exóticas (Clavero & García-Buerthou 2006). Frente a esto surge la necesidad imperiosa de, por una parte, determinar cuáles son los efectos reales que cada uno de estos forzantes está generando, y cuáles son las medidas de manejo y de acción necesarias para revertir estos efectos (Possingham *et al.* 2015; IPBES 2019; O'Loughlin *et al.* 2019).

Las especies exóticas invasoras (EEI) pueden definirse como las especies que logran traspasar barreras biogeográficas estableciéndose exitosamente en nuevas regiones, y que generan un impacto negativo en el nuevo ecosistema (Richardson *et al.* 2000; ISC 2019). Debido a sus capacidades intrínsecas, las EEI se reconocen como una de las causas más importantes de pérdida de biodiversidad (Trentanovi *et al.* 2013, Dar & Reshi 2014). Esto se debe a que las EEI pueden alterar las condiciones del hábitat (Byers *et al.* 2010), competir por el acceso a recursos (Brown *et al.* 2002) o directamente depredar sobre las especies nativas (Doherty *et al.* 2016).

Este efecto que la actividad antrópica ha provocado está causando alarma en la

población y en especial en la invasión de los humedales en la comuna de Valdivia, siendo éstos ecosistemas fundamentales para nuestra ciudad dado que son zonas de transición entre ecosistemas de agua dulce y terrestre, contención de agua lluvia y además mantienen una alta biodiversidad de especies endémicas de nuestra zona.

Por esta razón, en el presente trabajo de investigación, se pretende comparar dos humedales de Valdivia mediante la técnica de ADN ambiental y evidenciar la influencia de la actividad antrópica.

Hipótesis

La actividad antrópica altera un ecosistema, evitando que animales nativos puedan vivir y desarrollarse. Sin embargo en un lugar prístino, libre la intervención humana es más factible encontrar especies nativas viviendo y desarrollándose.

Objetivo General

Evaluar los efectos de la actividad antrópica sobre el ecosistema de un humedal.

Objetivos Específicos

- ✓ Identificar especies de animales mediante la Técnica de ADN Ambiental.
- ✓ Comparar los tipos de especies encontradas por Técnica de ADN Ambiental en dos Humedales de Valdivia.
- ✓ Analizar los resultados y datos obtenidos, los que serán utilizados como diagnóstico ambiental de un ecosistema.

Metodología

El presente estudio se llevará a cabo en dos Humedales de la comuna de Valdivia Región de los Ríos, Humedal Angachilla, ubicado en medio de la ciudad y Humedal Río Cruces, ubicado en una reserva natural.

Para llevar a cabo este estudio, se utilizará la Técnica del ADN Ambiental como herramienta para obtener los ensamblajes de especies en los humedales mencionados, para lo cual se tomarán muestras ambientales de agua.

Se recolectaron muestras de agua superficial de ambos humedales muestreados. Para cada humedal, se tomarán dos puntos de muestreo, y en cada punto se colectaron tres replicas. Las muestras serán colectadas en bolsas plásticas estériles (1 L) y transportadas en contenedores plásticos previamente desinfectados hasta el lugar de filtrado. Para cada punto, se filtrará 1 litro de la muestra de agua dividido en 4 filtrados, por lo tanto cada 250 ml se utilizará un filtro de nitrato de celulosa de 47 mm de diámetro con un tamaño de poro de 0,22 μm . La filtración se realizará a través de una bomba de vacío manual. Una vez filtradas las muestras, cada filtro se almacenará en tubos de 2 ml con tapa rosca a los cuales se les añadirán 1 ml de buffer de lisis (Thermofisher).

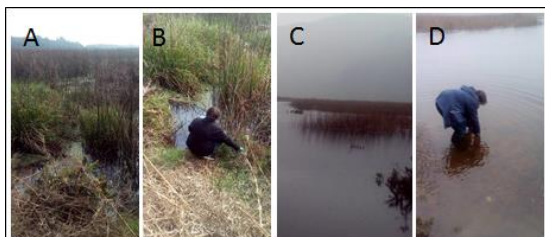


Fig.1: A: Humedal Angachilla. B: toma de muestra en humedal Angachilla. C: Humedal Río Cruces. D: toma de muestra humedal Río Cruces.

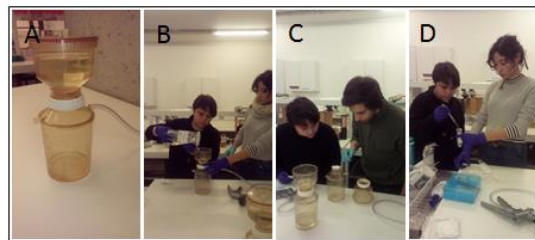


Fig.2: A: Bomba al vacío manual. B: filtrado de muestras. C: filtro nitrato de celulosa. D: filtros guardados en tubos con buffer de lisis.

Todos los filtros almacenados en los tubos con tapa rosca serán homogeneizados a través de un disruptor (60 seg a 2.5 x 1000 stroke), luego el ADN se extraerá de los filtros utilizando el kit GeneJET genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific) siguiendo el protocolo del fabricante con modificaciones menores (previo a la incubación, cada filtro se sostendrá con una pinza previamente limpiada con cloro, agua y etanol y se traspasará 500 μl de la solución de lisis a un tubo microcentrífuga de 1.5 ml; luego se le añadirá 50 μl de la solución Proteinasa K y se mezclará con vortex). Las muestras de ADN extraídas (60 μL) se almacenaron a -20 °C hasta el ensayo de PCR.

Todas las extracciones se realizarán bajo condiciones estériles dentro de una cámara desinfectada, la cual se expone a luz UV 10 minutos antes de realizar las extracciones y donde sólo se manipularán los filtros con el ADN ambiental. Como control negativo se filtrará 1 L de agua milliQ que se incluirá en todos los análisis de ADN ambiental para confirmar que no se produjo contaminación durante el proceso de extracción.



Fig.3: A y B: extracción de ADN. C: preparación del material para análisis ADN.

El procesamiento general de las secuencias se realizará con el programa OBLtools (Boyer *et al.* 2015).

Una vez procesadas las secuencias, éstas se compararán con la base de datos de GeneBank; las secuencias que no se encuentran públicamente disponibles serán comparadas con la base de datos propia.

Para las secuencias analizadas que no se obtenga el 100% de asignación con las respectivas bases de datos, se asignarán OTUs utilizando el programa MEGAN6 con el cual el análisis taxonómico se realiza según la taxonomía NCBI, en el cual asigna para cada lectura, el nodo del ancestro común más bajo que se encuentra sobre todos los organismos para los cuales la lectura presenta una alineación significativa mayor al 98% de similitud (Huson *et al.* 2007).

Con la información obtenida a través de estos programas se obtendrán las matrices de composición de especies de cada uno de los ensambles.

Resultados

Para realizar los análisis de base de datos, mediante Excel se registraron las especies encontradas por Técnica de ADN, seguido de esto, del listado identificado se corroboró con base de datos las nativas de las introducidas por sector analizado.

Especie analizada	Humedal Angachilla		Humedal Río Cruces	
	N° Especies Introducidas	N° Especies Nativas	N° Especies Introducidas	N° Especies Nativas
Mamíferos	6	3	1	2
Aves	9	3	1	9
Peces	2	3	1	4
Anfibios	0	4	0	6

Tabla N°1: identificación de número de especies encontradas en las muestras de cada humedal y clasificadas en introducidas y nativas.

Discusión y Conclusión

Se evidenció e identificaron especies introducidas en el humedal Angachilla, intervenido por acción antrópica.

El humedal Río Cruces se mantiene prístino con un alto índice de especies nativas y mantención de la biodiversidad valdiviana.

No obstante es necesario continuar con el seguimiento y monitoreo con el fin de alertar cambio en el ecosistema y fundamentalmente generar una toma de conciencia en la población respecto de la importancia de proteger nuestro entorno y las especies nativas que allí habitan.

Proyección

La técnica del ADN ambiental, permite realizar un diagnóstico y análisis mucho más rápido, efectivo y de menor costo logístico para identificar las problemáticas ambientales a las cuales están sometidos diferentes ecosistemas.

Bibliografía

Clavero, M., & García-Berthou, E. (2006). Homogenization dynamics and introduction routes of invasive freshwater fish in the Iberian Peninsula. *Ecological Applications*, 16(6), 2313-2324.

Dar, P. A., & Reshi, Z. A. (2014). Components, processes and consequences of biotic homogenization: a review. *Contemporary problems of ecology*, 7(2), 123-136.

Rosser, A. M., & Mainka, S. A. (2002). Overexploitation and species extinctions. *Conservation Biology*, 16(3), 584-586.

Rosenberg, A. A. (2003). Managing to the margins: the overexploitation of fisheries. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 1(2), 102-106.

Trentanovi, G., von der Lippe, M., Sitzia, T., Ziechmann, U., Kowarik, I., & Cierjacks, A. (2013). Biotic homogenization at the community scale: disentangling the roles of urbanization and plant invasion. *Diversity and Distributions*, 19(7), 738-748.