

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

**Caracterización de los grupos de eucariotas encontrados en ecosistemas de
agua salobre en Isabela**

Juan Mateo Revelo Mosquera

Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniero en Biotecnología

Quito, 18 de diciembre de 2024

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

**Caracterización de los grupos de eucariotas encontrados en ecosistemas de
agua salobre en Isabela**

Juan Mateo Revelo Mosquera

Nombre del profesor, Título académico

Juan José Guadalupe, MSc.

Nombre del profesor, Título académico

María de Lourdes Torres, PhD.

Quito, 18 de diciembre de 2024

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Juan Mateo Revelo Mosquera

Código: 00320670

Cédula de identidad: 1722370077

Lugar y fecha: Quito, 18 de diciembre de 2024

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETheses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETheses>.

RESUMEN

Las Islas Galápagos han sido reconocidas mundialmente por su alto número de especies endémicas. Un claro ejemplo de esta biodiversidad puede encontrarse en los diferentes ecosistemas acuáticos del archipiélago, donde aquellos de aguas salobres se caracterizan por su particular mezcla entre agua salina y dulce, creando así un ambiente único. No obstante, tanto la diversidad, composición y funciones de los eucariotas presentes en dichos ecosistemas no ha sido estudiada en su totalidad. Es por ello que el presente estudio buscó caracterizar la diversidad y composición de organismos eucariotas identificados en agua salobre de la Isla Isabela con la finalidad de comprender el rol ecológico e importancia, tanto de los organismos como del ecosistema. Esto se logró a partir del análisis de ADN ambiental en conjunto con la tecnología de secuenciación por nanoporos (ONT) en muestras de agua salobre obtenidas en 9 sitios de la Isla Isabela. Se evidenció que en la gran mayoría de las muestras predominan los órdenes Calanoida (copépodos), Cymatosirales (diatomeas), Mamiellales (algas) y Ploima (rotíferos). En cuanto al análisis de beta diversidad, se formaron dos grupos de muestras, agrupadas según el sitio de colecta. Por otro lado, se evidenció que la diversidad es moderadamente variable entre los sitios, posiblemente debido a condiciones ambientales o fisicoquímicas. Finalmente, la investigación de los roles ecológicos de los géneros identificados resaltó la importancia de estos organismos en la cadena trófica del ecosistema, así como su posible uso como bioindicadores de distintos contaminantes. Esta investigación proporciona información de línea base valiosa sobre la diversidad y roles de eucariotas en ecosistemas salobres de Isabela.

Palabras clave: Eucariotas, Galápagos, Isla Isabela, Ecosistemas de agua salobre, ADN ambiental.

ABSTRACT

The Galápagos Islands are globally recognized because of their great number of endemic species. A clear example of this biodiversity is reflected within the archipelago's various aquatic ecosystems, particularly in the brackish water environments. These ecosystems stand out due to their unique mixture of salt and freshwater, creating a distinct environment. However, the diversity and composition of organisms present in these ecosystems has not been fully explored. Therefore, this study aimed to characterize the diversity and composition of eukaryotic organisms identified in brackish water sources to better understand both the ecological roles and importance of these organisms and their ecosystem. This was achieved through environmental DNA (eDNA) analysis combined with nanopore sequencing technology (ONT) on samples collected from 9 sites across Isabela Island. Results revealed that the orders Calanoida (copepods), Cymatosirales (diatoms), Mamiellales (algae), and Phaeocystales (algae) predominated in most samples. In terms of beta diversity analysis, two clusters of samples were identified, grouped according to the collection sites. On the other hand, we identified that diversity varies moderately across sites, which may be influenced by environmental conditions or physicochemical properties. Finally, an investigation into the ecological roles of the identified genus underscored the significance of these organisms in the ecosystem's trophic chain and their potential use as bioindicators for various contaminants. This study provides valuable baseline information about the diversity and ecological roles of eukaryotes in brackish ecosystems from Isabela.

Key words: Eukaryotes, Galápagos, Isabela Island, Brackish Water Ecosystems, eDNA

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	10
MÉTODOS	13
RESULTADOS.....	16
DISCUSIÓN	18
CONCLUSIONES	22
TABLAS	23
FIGURAS	25
REFERENCIAS.....	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. – Muestras obtenidas en Isla Isabela Galápagos de ecosistemas acuáticos salobres. 23

Tabla 2. – Posibles roles ecológicos de los géneros identificados en las muestras de Isabela 23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. - Mapa de los distintos sitios de colecta de muestras en la Isla Isabela – Galápagos	25
Figura 2. – Abundancia relativa de los 20 órdenes eucariotas identificados en muestras de agua salobre de Isabela utilizando el marcador COI	26
Figura 3. – Análisis de coordenadas principales (PCoA) de la composición de eucariotas en 9 sitios de agua salobre en Isabela	27
Figura 4. – Índices de Shannon calculados para cada sitio de muestreo de aguas salobres en Isabela	28

INTRODUCCIÓN

El archipiélago de las Islas Galápagos ha sido reconocido por su alto número de especies endémicas y fue catalogado por la UNESCO como un sitio de patrimonio mundial (UNESCO World Heritage Centre, s.f.). Las islas se encuentran ubicadas aproximadamente a 960km de la costa este del Ecuador en el Océano Pacífico y se componen por 19 islas principales y más de 40 islotes pequeños, todos estos siendo de origen volcánico (Jacksom, 1993). Lo que más resalta del archipiélago es que aloja diversas especies de flora y fauna únicas, las cuales surgieron gracias a las condiciones climáticas y geográficas específicas de cada isla (Jackson, 1993). Dentro del archipiélago se encuentra la Isla Isabela, la cual se caracteriza por tener un área de 4588 km^2 , siendo así la isla más grande de las Galápagos y albergando una gran cantidad de ecosistemas tanto terrestres como acuáticos (Galápagos Conservancy, 2023).

Al centrarnos en los ecosistemas acuáticos, estos se distinguen por albergar una gran diversidad de individuos y se dividen en tres tipos: los de agua salada, agua dulce y agua salobre (Bennett, 2022). La principal diferencia entre cada uno es su salinidad. El agua dulce posee una salinidad de 500 ppm o inferior, el agua salada presenta valores entre 30 000 y 50 000 ppm mientras que el agua salobre tiene valores intermedios entre 500 y 30 000 ppm (Bennett, 2022). Este último ecosistema se origina en puntos donde el agua dulce y salada llegan a mezclarse, originando lugares como los manglares o pozas de agua (Cognetti & Maltagliati, 2000). Sin embargo, más allá de ser un sitio de conexión entre agua dulce y salada, los manglares y pozas son esenciales para el mantenimiento de la biodiversidad, ya que constituyen hábitats donde diversos organismos interactúan, crecen y se reproducen (Vidler, 2023). Esto se debe gracias a la constante mezcla entre agua dulce y salada, lo que provoca que las pozas de agua salobre presenten abundantes cantidades de plancton, convirtiéndolas en sitios adecuados para la alimentación tanto de vertebrados como de invertebrados (Vidler,

2023).

Dentro de los organismos que componen la diversidad de este ecosistema salobre se puede encontrar tanto procariotas como eucariotas, siendo este último conformado principalmente por invertebrados pequeños (metazoos) y algas (Tamaris-Turizo et al., 2018). Con respecto a los invertebrados pequeños, estos son indispensables puesto que están directamente relacionados con el ciclo de nutrientes (Reiss, 2021). Un claro ejemplo de ello es su rol como fuente de alimento principal para muchos macroinvertebrados bénticos (dípteros, crustáceos, entre otros) y una gran variedad de peces (carpas, bagres, entre otros) (Ptatscheck et al., 2020). De igual forma, descomponen la materia orgánica, como la hojarasca, y se alimentan de bacterias y hongos (Reiss, 2021). A pesar de ello son un grupo poco estudiado debido a la complejidad de su investigación (Reiss, 2021). Por otro lado, las algas también son fundamentales en estos ecosistemas, puesto que algunas de ellas son parte del fitoplancton, actuando como productores primarios (“Primary Producers”, 2007).

El estudio de eucariotas en términos de caracterización y roles ecológicos puede enriquecerse sustancialmente mediante el uso de técnicas modernas como el ADN ambiental (eDNA), el cual ha revolucionado el monitoreo y estudio de organismos en la última década (Mauvisseau et al., 2022). El estudio del eDNA se basa en analizar los restos de ADN que cada organismo libera en el ambiente, tales como pelo, heces, fluidos y cualquier material biológico, al momento de movilizarse, alimentarse, eliminar desechos o morir (Thomsen & Willerslev, 2015). Esta técnica presenta una gran ventaja en comparación con el monitoreo y conteo de individuos de forma visual, puesto que este último es un proceso que demanda altas cantidades de tiempo y los resultados obtenidos no siempre son suficientes para tener una evaluación fiable, más aún si se tratan de organismos microscópicos (Thomsen & Willerslev, 2015). Mientras que el análisis del eDNA permite detectar y estudiar la diversidad de organismos a partir de una muestra ambiental, sin necesidad de observación (Thomsen & Willerslev, 2015).

Se ha demostrado que el uso de ADN ambiental es útil en el monitoreo y detección de especies marinas (Gold et al., 2021). Por ejemplo, se lo ha implementado en el monitoreo de especies acuáticas en zonas protegidas (Gold et al., 2021) y en la detección de especies invasoras (Rishan et al., 2023).

Debido a que el ADN ambiental contiene restos biológicos de otros organismos además de eucariotas, es útil recurrir al uso de marcadores moleculares para poder analizar correctamente los organismos de interés (Othman et al., 2021). En el caso de eucariotas es posible utilizar como marcador el gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad I (COI), involucrado en la cadena de transporte de electrones (Sabir et al., 2019). Dicho gen es utilizado para técnicas de metabarcoding, específicamente su porción 5' la cual posee un tamaño de alrededor 640 pb (Souza et al., 2016). Particularmente para el estudio de eucariotas es considerado como un marcador universal debido a las ventajas que presenta frente a otros marcadores: es un gen con una baja cantidad de intrones, es muy conservado en eucariotas, pero posee suficientes variaciones para permitir la identificación de especies y se ha utilizado para identificar un amplio rango de eucariotas en estudios moleculares (Bucklin et al., 2011).

El presente estudio tuvo como finalidad analizar la diversidad y composición de organismos eucariotas en diferentes fuentes de agua salobre de la Isla Isabela, Galápagos, a partir de muestras de ADN ambiental, utilizando el gen COI como marcador molecular. Los resultados obtenidos permitirán expandir el poco conocimiento que se tiene sobre el rol ecológico de comunidades eucariotas en ambientes diversos y poco estudiados como lo son las aguas salobres de las Galápagos.

MÉTODOS

Toma de muestras

Para la recolección de muestras en los diversos puntos de Isla Isabela se usó recipientes de vidrio autoclavados, los cuales fueron enjuagados 3 veces con el agua del sitio seleccionado antes de la toma de 1L de agua. Posteriormente, el litro de agua recolectada fue filtrada en Filtros Sterivex (Merck) de 0.45um. Las muestras se mantuvieron bajo refrigeración hasta su procesamiento en el Galápagos Science Center en la Isla San Cristóbal.

En total se recolectaron 9 muestras de agua salobre dentro de la Isla Isabela en las siguientes localidades: Poza de los Tunos, Quinta Playa, Finado, Pozas Verdes, Orilla Pozas Diablas, Cartago, Orchilla, El Faro y Túneles (**Tabla 1, Figura 1**).

Extracción de ADN y cuantificación

La extracción y cuantificación de ADN se realizaron en el Galápagos Science Center. Para la extracción de ADN se utilizó el kit DNeasy® Blood & Tissue (QIAGEN, Stockach, Germany) y para la cuantificación el equipo Nanodrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, USA).

Amplificación, preparación de librerías y secuenciamiento

Para la amplificación de la región COI se empleó el protocolo de Leray et al. (2013). Se utilizó el primer forward mlCOIintF y el primer reverse dgHCO2198. Dicho set de primers permite obtener amplicones de 313 pb correspondientes a aproximadamente la segunda mitad de la región completa del gen COI.

Los amplicones fueron secuenciados en el Galápagos Science Center con el equipo MiniION Mk1B, siguiendo el protocolo de librerías de Native Barcoding Kit 24 V14 (SQK-NBD114.24) (Native Barcoding Kit 24 V14, s.f.).

Procesamiento de lecturas y construcción de OTUs (Unidades Taxonómicas Operacionales)

Las secuencias se procesaron inicialmente con el programa NanoPlot v1.42.9 (De

Coster & Rademakers, 2023) para obtener el valor promedio de calidad de lecturas. Con dicho valor se utilizó el programa NanoFilt v2.8.0 (De Coster et al., 2018), para filtrar las lecturas con calidades promedio menores a 8. Finalmente se utilizó Porechop v0.2.4 (Bonenfant et al., 2022) para remover los adaptadores y barcodes presentes en las lecturas. Como resultado, se obtuvieron 9 archivos fastq.

Para el análisis de las lecturas se empleó el pipeline CC-Metagen v1.5.0 (Clausen et al., 2018; Marcelino et al., 2020), el cual permite realizar un filtrado de lecturas, un mapeo de k-mers y el alineamiento de secuencias para la obtención de OTUs, y su identificación taxonómica de acuerdo con la base de datos de NCBI-nt_euk (NCBI, 2024). Con los OTUs obtenidos se realizó un filtrado de contaminantes, en donde se eliminaron OTUs que no pudieron ser asignados taxonómicamente a un nivel más específico que el de reino. Posteriormente, se hizo una rarificación a 100 lecturas con el objetivo de obtener profundidades de secuenciamiento equitativas entre las muestras y de este modo permitir la comparación entre las mismas.

Análisis de diversidad

Con los OTUs obtenidos se utilizó un script personalizado en el programa R 4.1.2 (R: The R Project for Statistical Computing, 2024) para el análisis de alfa y beta diversidad. Dicho script implementó los paquetes de: Ohchibi 0.0.0.9000 (Salas Gonzalez, 2019), AMOR 0.1-2 (Herrera Paredes, 2018) y Vegan 2.6-6.1 (Oksanen, et al., 2024). De igual forma, se calculó el índice de diversidad de Shannon para cada muestra y se generó un gráfico de barras en R.

Con respecto a beta diversidad, se construyó una matriz de disimilitud Bray-Curtis y con ella se realizó un Análisis de Coordenadas Principales (PCoA). Así mismo, se obtuvieron gráficos de abundancias relativas para visualizar la composición de cada muestra en distintos niveles taxonómicos.

Investigación de roles ecológicos

A partir de los grupos taxonómicos más abundantes se realizó una tabla con los posibles roles ecológicos de los organismos pertenecientes a este ecosistema de acuerdo con información reportada en literatura.

RESULTADOS

Abundancias relativas de eucariotas en muestras de agua salobre en la Isla Isabela

La **Figura 2** representa un gráfico de abundancias relativas obtenido para visualizar la composición de las muestras de agua salobre recolectadas en los 9 sitios en el nivel taxonómico de orden. En este se puede evidenciar que la gran mayoría de las muestras contienen entre un 20% y 80% de Calanoides. Por otro lado, los sitios de Cartago, El Faro, Quinta Playa, Túneles y Finado poseen entre un 20% – 40% y un 10% – 40% de Phaeocystales y Mamiellales respectivamente. El orden Ploima se encuentra en un 80-90% en Pozas Verdes y Orilla de Pozas Diablas. De igual forma se puede observar que las muestras de Cartago, El Faro, Túneles y Quinta Playa poseen composiciones de eucariotas similares, mientras que las muestras de Pozas Verdes y Orilla de Poza Diablas son las únicas muestras que contienen organismos del orden Ploima. Los sitios Pozas de los Tunos y Orchilla presentan composiciones diferentes al resto de muestras. En el caso de Orchilla, el orden predominante corresponde a Calanoida en un 90% de la composición, mientras que Poza de los Tunos contiene un 20% de Calanoida, pero un 40% de Pythiales, siendo este el orden predominante en dicho sitio.

Análisis de similitud de comunidades eucariotas empleando un gráfico de coordenadas principales

En cuanto al análisis de beta diversidad, se construyó un gráfico de PCoA (Análisis de Coordenadas Principales) en el cual se puede observar que las muestras forman dos grupos según su sitio de colecta, los cuales se separan a lo largo del eje del componente 2 (PCo2) (**Figura 3**). Se puede observar que el a la izquierda de la **Figura 3** está conformado por las muestras: Orilla de Poza Diablas, Pozas Verdes y Poza de los Tunos. El segundo grupo, ubicado en la parte derecha de la figura, posee 4 muestras, correspondientes a Cartago, El Faro, Quinta

Playa y Túneles. Con respecto a las muestras de Finado y Orchilla, estas no se asociaron en ningún grupo.

Diversidad de los ecosistemas de agua salobre de Isabela utilizando el índice de Shannon

Con respecto a alfa diversidad, se calculó el índice de diversidad de Shannon para cada una de las 9 muestras (**Figura 4**). Los sitios que presentan un índice más alto son, Túneles, Poza de los Tunos y Finado, dado que tienen valores de Shannon de 1.995, 1.870 y 1.843 respectivamente. Mientras que las menos diversas corresponden a las muestras Pozas Verdes (0.881), Orchilla (0.960) y Orilla de Poza Diablas (1.092).

Posibles roles ecológicos de los géneros de eucariotas identificados en las muestras de agua salobre de la Isla Isabela

La **Tabla 2** corresponde a los roles ecológicos de los géneros eucariotas que se identificaron. Iniciando con los metazoos, estos se componen principalmente por copépodos, cuyo rol fundamental es actuar como consumidores primarios del ecosistema. Con respecto a los rotíferos, además de actuar como fuente de alimento, pueden ser utilizados como bioindicadores de contaminantes orgánicos e inorgánicos. Finalmente, los dípteros, los cuales pueden ser utilizados también como bioindicadores de contaminantes orgánicos e inorgánicos, así como para condiciones de acidificación. De igual forma se identificaron diatomeas, cuyo rol es realizar fotosíntesis, formar parte del ciclo del silicio y adicionalmente se les puede dar un uso como bioindicadores de calidad de agua.

DISCUSIÓN

Composiciones de eucariotas identificados en las muestras de agua salobre de la Isla Isabela

En la **Figura 2**, se puede observar que en la composición predominan organismos metazoos del orden Calanoida (Copépodos) y Ploima (Rotíferos). Con respecto a Calanoida, se ha reportado que estos organismos son comunes en ambientes salobres, como lo corrobora el estudio realizado por Bamber, et al., donde identificaron Calanoides al Noroeste de Europa en agua salobre (1995). De igual manera, animales del orden Ploima también son comunes en ambientes salobres debido a que son predominantes en ecosistemas acuáticos (Liang et al., 2020). Ahora bien, hace sentido que estos ordenes sean los más abundantes entre las muestras, debido a que tanto copépodos como rotíferos conforman la mayor parte del zooplancton en ambientes acuáticos (Gavrillo et al., 2024; Younis et al., 2024). Asimismo, su abundante detección se debe a que el marcador COI es altamente eficiente en la identificación y caracterización de copépodos y rotíferos (Zhang et al., 2021; Blanco-Bercial et al., 2011).

Además de metazoos, también se identificaron órdenes de algas y diatomeas, estos son: Cymatosirales (Diatomeas), Naviculales (Diatomeas) y Mamiellales (Algas). Esto es debido a que el marcador COI también puede identificar taxonómicamente algas en estudios de metabarcoding (Kezlya et al., 2023). De igual forma, en los estudios de Kogame et al., se encontraron diversos tipos de algas en aguas salobres (2016). Respecto a las diatomeas, estas se han encontrado presentes en diversos ambientes salobres como se indica en Heudre et al. (2020), estudio donde se registran diversas especies de diatomeas presentes en la cuenca Rhin-Meuse en Francia.

La composición de las comunidades eucariotas podría explicarse por la proximidad geográfica o condiciones fisicoquímicas comunes entre sitios

En la **Figura 3** se puede observar que las muestras se agrupan en dos grupos según el

sitio de colecta. Un posible motivo por el cual presentan comunidades similares puede deberse a su cercanía geográfica (Swistick, 2022). Como es el caso de las muestras Orilla de Poza Diablas, Pozas Verdes y Poza de los Tunos (**Figura 1**) o el caso de El Faro y Cartago. Por otro lado, hay muestras que se encuentran distantes geográficamente, pero que se observan agrupadas en el PCoA (**Figura 1**). Esta similitud en sus comunidades podría deberse a que algunas pozas sean alimentadas por una fuente de agua común y compartan un tipo similar de sedimento. Esto puede ser posible gracias a la presencia de túneles subterráneos de origen volcánico que conectan a las pozas entre sí (Bastidas et al., 2022). No obstante, es necesario realizar estudios geográficos adicionales para corroborar si dichos túneles conectan estos sitios en específico. Finalmente, es necesario recolectar más información sobre los sitios Finado y Orchilla para conocer el motivo por el cual estas muestras no se llegan a agrupar.

En este caso debido a la poca cantidad de muestras no fue posible realizar pruebas estadísticas. Una recomendación para futuros estudios sería aumentar el número de réplicas y muestras para así tener un panorama más completo de la composición de eucariotas presente en estos sitios. De igual forma, se debería tomar datos sobre las condiciones fisicoquímicas de cada sitio muestreado. Lo mencionado aportaría a la investigación de estos ecosistemas poco estudiados y de los cuales se necesita más información para entender mejor las dinámicas de organismos que habitan en estos ambientes (*Biodiversity – Galapagos Science Center*, s.f.).

La salinidad y factores climáticos podrían explicar cambios en diversidad entre sitios de agua salobre

La alfa diversidad puede definirse como la diversidad de especies que existen dentro de una comunidad (Andermann et al., 2022). Esta medida puede ser representada bajo diferentes índices, uno de ellos corresponde al Índice de Shannon el cual utiliza dos parámetros para su cálculo: riqueza de especies y uniformidad (Libretexts, 2024). El rango de valores usualmente es entre 1.5 – 3.5 para estudios ecológicos, donde los valores superiores indican una alta

diversidad, mientras que los inferiores reflejan una baja diversidad (Ortiz-Burgos, 2015). En la **Figura 4** se puede destacar que 6 de las 9 muestras presentan valores superiores a 1.5, lo cual es un valor común en la mayoría de estudios de comunidades eucariotas (Ortiz-Burgos, 2015). El posible motivo por el cual presentan un índice alto puede deberse a que mantienen condiciones que favorecen a la diversidad de individuos. Algunos estudios han demostrado que la salinidad y disponibilidad de nutrientes afectan notoriamente a la diversidad (Larson & Belovsky, 2013). Puesto que se evidenció que, al disminuir la salinidad, junto con el mantenimiento o aumento de los nutrientes, favorece la estabilidad o el aumento de la diversidad de las poblaciones de zooplancton y fitoplancton (Zorina-Sakharova et al., 2014). De igual forma, este mismo factor podría explicar las muestras con una diversidad inferior a 1.5 (Pozas Verdes, Orchilla, Orilla de Poza Diablas), ya que incrementos en la salinidad han demostrado ser perjudiciales para la diversidad de organismos (Larson & Belovsky, 2013; Zorina-Sakharova et al., 2014). Otros factores que pueden afectar negativamente a la diversidad son las variables ambientales, como cambios en los patrones fluviales, los cuales alteran las relaciones tróficas si la lluvia es excesiva (Kim et al., 2024; Pires et al., 2016). Un ejemplo de ello puede ser el fenómeno de El Niño, dado que el constante cambio climático podría incrementar la frecuencia e intensidad de las lluvias ocasionadas por dicho fenómeno (*Climate Change - Disc overing Galapagos*, 2016).

Importancia ecológica de los organismos identificados y sus posibles usos en el monitoreo ambiental

La **Tabla 2** resume los géneros identificados y sus funciones ecológicas. La mayoría de los organismos identificados son copépodos, como Calanoides y Poecilmastoida, que forman parte del zooplancton y constituyen la base alimentaria fundamental para larvas y peces pequeños (Belgrano et al., 2013). Sin embargo, Euchaetidae y Farranula se destacan por ser depredadores de otros copépodos (Benedetti et al., 2015). En cuanto a los rotíferos, el orden

Ploima y género *Brachionus* son los más abundantes, actuando como consumidores primarios al alimentarse de fitoplancton (Thorp et al., 2010). Sin embargo, su particularidad es que pueden servir como bioindicadores de contaminación dentro del ecosistema (Liang et al., 2020). El género *Brachionus* ha sido utilizado en pruebas de toxicidad de contaminantes orgánicos e inorgánicos, como en el caso del derrame de petróleo del Golfo de México (Rico-Martinez et al., 2016). Finalmente, el género *Chironomus* también resulta útil como bioindicador, dado su amplio rango de tolerancia a contaminantes y a condiciones de acidificación, haciéndolo adecuado para monitorear ecosistemas impactados por actividades humanas (Sierpe & Sunica, 2019; Paggi, 1999).

Por último, las diatomeas identificadas, pertenecientes al orden Bacillariales, desempeñan un papel crucial en la captura de CO_2 y producción de O_2 , además de intervenir en el ciclo del silicio al incorporar el mineral disuelto en sus esqueletos. Al morir, los esqueletos y el CO_2 absorbido descienden y quedan atrapados en el sedimento, actuando como un depósito natural de carbono (Serodio & Lavaud, 2020; Cassarino et al., 2024). Adicionalmente, un género identificado corresponde a *Nitzschia*, el cual ha demostrado que puede actuar como bioindicador en estudios de contaminación y tolerancia a metales pesados (Crowe et al., 2018).

CONCLUSIONES

A partir del estudio realizado se obtuvieron resultados que permitieron caracterizar las comunidades de eucariotas en aguas salobres de Isabela. Las composiciones de los sitios estudiados revelaron la predominancia de los órdenes Calanoida, Cymatosirales, Mamiellales y Ploima, los cuales han sido identificados en otros ecosistemas salobres. Con respecto al análisis de coordenadas principales se observó la agrupación de las muestras en dos grupos según el sitio de colecta. Un posible motivo por el cual las muestras se agrupan puede deberse a su cercanía geográfica y a que pueden presentar parámetros fisicoquímicos similares, como la salinidad.

En alfa diversidad se encontró que las muestras presentan índices de Shannon que varían según el sitio de colecta. Sin embargo, los índices registrados sí han sido reportados en estudios ecológicos y la variación de estos valores puede estar sujeta a las condiciones fisicoquímicas del sitio (salinidad) o a factores ambientales. Los roles ecológicos de los géneros identificados permitieron destacar la posible importancia de los organismos dentro de este ecosistema. Iniciando con los copépodos y rotíferos, estos han demostrado ser fundamentales en las redes tróficas debido a que son consumidores primarios y productores secundarios. Las diatomeas participan en procesos como la fotosíntesis y ciclo del silicio en estos ecosistemas. Adicionalmente, se evidenció que la mayoría de estos organismos, en conjunto con los Dípteros, pueden tener funciones adicionales como bioindicadores de contaminación y calidad del agua en la que habitan.

Se recomienda para futuros estudios incluir un mayor número de muestras para así poder realizar pruebas estadísticas que permitan validar la significancia de los datos, así como incluir la toma de datos fisicoquímicos de las fuentes de agua. Esto con el fin de monitorear dichos parámetros y evidenciar si la presencia de los organismos bioindicadores es natural o resultado de algún estrés ambiental.

TABLAS

Tabla 1. – Muestras obtenidas en Isla Isabela Galápagos de ecosistemas acuáticos salobres

Zona	ID
Cartago	CART
Orilla de Poza Diablas	DIA2
Finado	FARO
El Faro	FIN
Orchilla	ORC
Quinta Playa	QPL11
Poza de los Tunos	TUN3
Túneles	TUNL
Pozas Verdes	VER

Tabla 2. – Posibles roles ecológicos de los géneros identificados en las muestras de Isabela

	Orden	Familia	Género Identificado	Función
Metazoos	Calanoida (Copépodos)	Paracalanidae	<i>Acrocalanus</i>	Consumidor primario de fitoplancton (Belgrano et al., 2013)
			<i>Paracalanus</i>	
		Calocalanidae	<i>Calocalanus</i>	
		Clausocalanidae	<i>Clausocalanus</i>	
		Temoridae	<i>Temora</i>	
	Poecilostomatoida (sub-orden copépodos)	Euchaetidae	<i>Euchaetidae</i>	Depredador de otros copépodos (Benedetti et al., 2015)
		Corycaeidae	<i>Farranula</i>	
	Ploima (Rotífero)	Brachionidae	<i>Brachionus</i>	Funciona como fuente de alimento (zooplancton), y usado como bioindicador para detectar contaminación de compuestos orgánicos e inorgánicos (Thorp et al., 2010;

				Rico-Martinez et al., 2016)
	Díptera	Chironomidae	<i>Chironomus</i>	Bioindicadores para detectar contaminación de compuestos orgánicos y metales pesados (Sierpe & Sunica, 2019; Paggi, 1999)
Diatomeas	Bacillariales	Bacillariaceae	<i>Nitzschia</i>	Participan en la fotosíntesis y Ciclo del Silicato y pueden usarse como un bioindicador de metales pesados (Cassarino et al., 2024; Crowe et al., 2018)

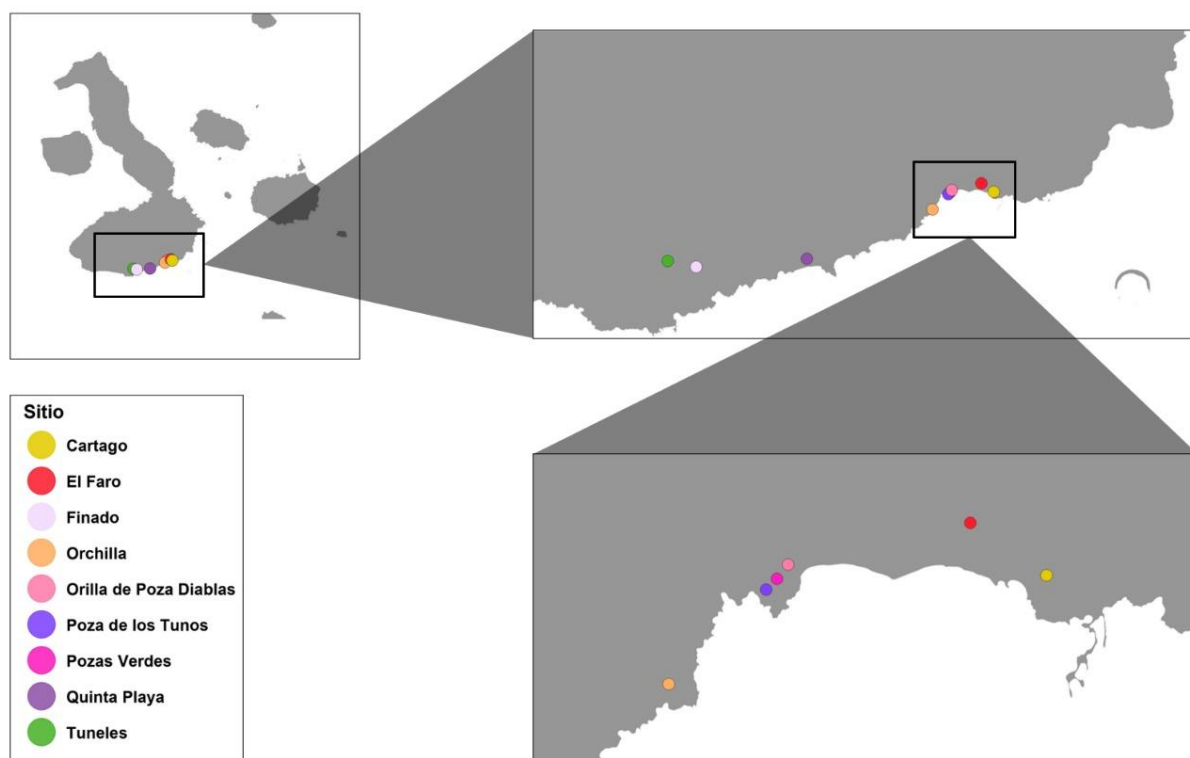
FIGURAS

Figura 1. - Mapa de los distintos sitios de colecta de muestras en la Isla Isabela – Galápagos

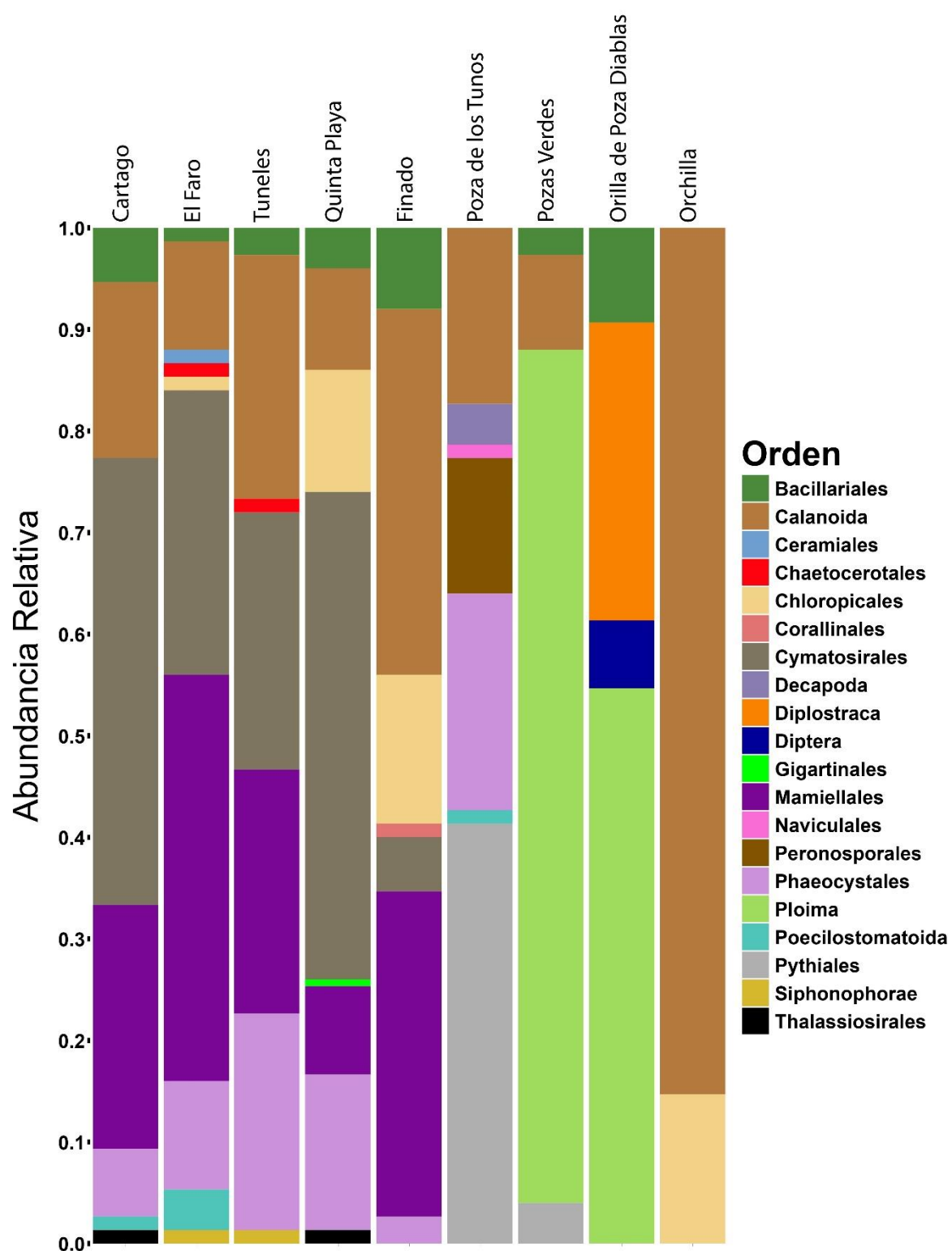


Figura 2. – Abundancia relativa de los 20 órdenes eucariotas identificados en muestras de agua salobre de Isabela utilizando el marcador COI

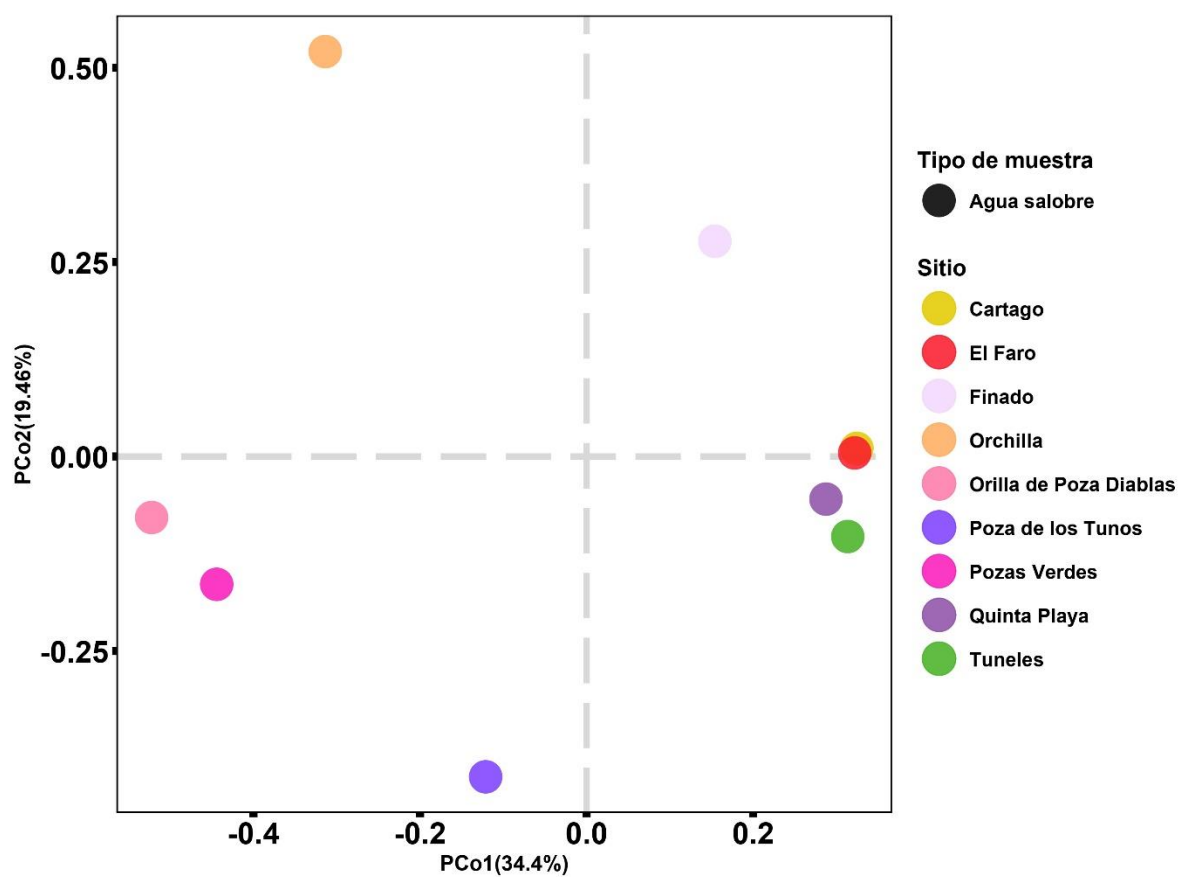


Figura 3. – Análisis de coordenadas principales (PCoA) de la composición de eucariotas en 9 sitios de agua salobre en Isabela

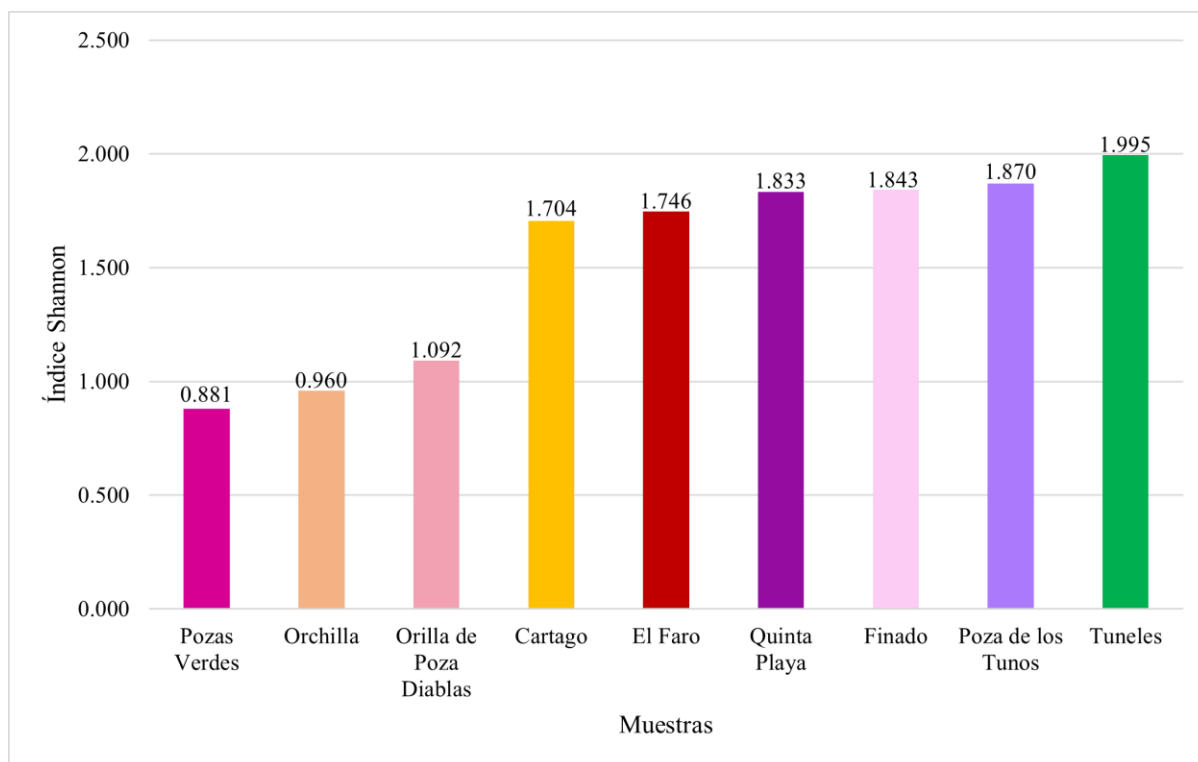


Figura 4. – Índices de Shannon calculados para cada sitio de muestreo de aguas salobres en Isabela

REFERENCIAS

- Andermann, T., Antonelli, A., Barrett, R. L., & Silvestro, D. (2022). Estimating alpha, beta, and gamma diversity through deep learning. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.839407>
- Bamber, R. (1995). The brackish water fauna of Northwestern Europe, R. S. K. Barnes, Cambridge University Press, Cambridge, 1994. xvi + 287 pp. Price: £40 (h/b ISBN 0 521 45529 4), £15.95 (p/b ISBN 0 521 45556 1). *Aquatic Conservation Marine and Freshwater Ecosystems*, 5(2), 168–169. <https://doi.org/10.1002/aqc.3270050208>
- Bastidas, G., Soria, O., Mulas, M., Loaiza, S., & Bordehore, L. J. (2022). Stability analysis of lava tunnels on Santa Cruz Island (Galapagos Islands, Ecuador) using rock mass classifications: empirical approach and numerical modeling. *Geosciences*, 12(10), 380. <https://doi.org/10.3390/geosciences12100380>
- Belgrano, A., Batten, S. D., & Reid, P. C. (2013). Pelagic Ecosystems. In *Elsevier eBooks* (pp. 683–691). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384719-5.00178-7>
- Benedetti, F., Gasparini, S., & Ayata, S. (2015). Identifying copepod functional groups from species functional traits. *Journal of Plankton Research*, 38(1), 159–166. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbv096>
- Bennett, M. (2022, June 30). *What are Brackish Water Environments?* Ocean Conservancy. <https://oceanconservancy.org/blog/2022/06/30/brackish-water-environments/>
- Biodiversity — Galapagos Science Center. (s.f.). <https://www.galapagossience.org/biodiversity/>
- Blanco-Bercial, L., Bradford-Grieve, J., & Bucklin, A. (2011). Molecular phylogeny of the Calanoida (Crustacea: Copepoda). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 59(1), 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.01.008>

- Bonenfant, Q., Noé, L., & Touzet, H. (2022). Porechop_ABI: discovering unknown adapters in Oxford Nanopore Technology sequencing reads for downstream trimming. *Bioinformatics Advances*, 3(1). <https://doi.org/10.1093/bioadv/vbac085>
- Bucklin, A., Steinke, D., & Blanco-Bercial, L. (2011). DNA barcoding of marine metazoa. *Annual Review of Marine Science*, 3(1), 471–508. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120308-080950>
- Cassarino, L., Pickering, R. A., Zhang, Z., & Liguori, B. (2024). The silicon cycle in the ocean. *Frontiers for Young Minds*, 11. <https://doi.org/10.3389/frym.2023.1178327>
- Clausen, P. T. L. C., Aarestrup, F. M., & Lund, O. (2018). Rapid and precise alignment of raw reads against redundant databases with KMA. *BMC Bioinformatics*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2336-6>
- Climate change - Discovering Galapagos*. (2016, August 30). Discovering Galapagos. <https://www.discoveringgalapagos.org.uk/discover/geographical-processes/weather-climate/climate-change/>
- Cognetti, G., & Maltagliati, F. (2000). Biodiversity and adaptive mechanisms in Brackish water fauna. *Marine Pollution Bulletin*, 40(1), 7–14. [https://doi.org/10.1016/s0025-326x\(99\)00173-3](https://doi.org/10.1016/s0025-326x(99)00173-3)
- Crowell, R. M., Nienow, J. A., & Cahoon, A. B. (2018). The complete chloroplast and mitochondrial genomes of the diatom *Nitzschia palea* (Bacillariophyceae) demonstrate high sequence similarity to the endosymbiont organelles of the dinotom *Durinskia baltica*. *Journal of Phycology*, 55(2), 352–364. <https://doi.org/10.1111/jpy.12824>
- De Coster, W., & Rademakers, R. (2023). NanoPack2: population-scale evaluation of long-read sequencing data. *Bioinformatics*, 39(5). <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btad311>

- De Coster, W., D'Hert, S., Schultz, D. T., Cruts, M., & Van Broeckhoven, C. (2018). NanoPack: visualizing and processing long-read sequencing data. *Bioinformatics*, 34(15), 2666–2669. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty149>
- Galápagos Conservancy. (2023, July 4). *Isabela Island | Galápagos Conservancy*. https://www.galapagos.org/about_galapagos/the-islands/isabela-island/
- Gavrilko, D., Zhikharev, V., Zolotareva, T., Kudrin, I., Yakimov, B., & Er lashova, A. (2024). Biodiversity of zooplankton (Rotifera, Cladocera and Copepoda) in the tributaries of Cheboksary Reservoir (Middle Volga, Russia). *Biodiversity Data Journal*, 12. <https://doi.org/10.3897/bdj.12.e116330>
- Gold, Z., Sprague, J., Kushner, D. J., Marin, E. Z., & Barber, P. H. (2021). eDNA metabarcoding as a biomonitoring tool for marine protected areas. *PLoS ONE*, 16(2), e0238557. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238557>
- Herrera Paredes, S. (2018). surh/AMOR: AMOR: Abundance Matrix Operations in R (0.1-2). Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1196668>
- Heudre, D., Wetzel, C. E., Van De Vijver, B., Moreau, L., & Ector, L. (2020). Brackish diatom species (Bacillariophyta) from rivers of Rhin-Meuse basin in France. *Botany Letters*, 168(1), 56–84. <https://doi.org/10.1080/23818107.2020.1738269>
- Jackson, M. (1993). *Galapagos a Natural History*. University of Calgary Press. https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=TxzU6i_LV0C&oi=fnd&pg=PR7&dq=description+of+the+galapagos+islands&ots=NuSBDfGuEw&sig=3j3SkEVlx17eqaO8HLMotihRb-k&redir_esc=y#v=onepage&q=description%20of%20the%20galapagos%20islands&f=false
- Kezlya, E., Tseplik, N., & Kulikovskiy, M. (2023). Genetic Markers for Metabarcoding of

- Freshwater Microalgae: review. *Biology*, 12(7), 1038.
<https://doi.org/10.3390/biology12071038>
- Kim, A., Lee, W., & Son, Y. (2024). The Interaction between Climate Change and Biodiversity Can Be Assessed from a Material Cycle Perspective. *Diversity*, 16(8), 506.
<https://doi.org/10.3390/d16080506>
- Kogame, K., Uwai, S., Anderson, R., Choi, H., & Bolton, J. (2016). DNA barcoding of South African geniculate coralline red algae (Corallinales, Rhodophyta). *South African Journal of Botany*, 108, 337–341. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.08.013>
- Larson, C. A., & Belovsky, G. E. (2013). Salinity and nutrients influence species richness and evenness of phytoplankton communities in microcosm experiments from Great Salt Lake, Utah, USA. *Journal of Plankton Research*, 35(5), 1154–1166.
<https://doi.org/10.1093/plankt/fbt053>
- Liang, D., Wang, Q., Wei, N., Tang, C., Sun, X., & Yang, Y. (2020). Biological indicators of ecological quality in typical urban river-lake ecosystems: The planktonic rotifer community and its response to environmental factors. *Ecological Indicators*, 112, 106127. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106127>
- Libretexts. (2024, October 8). 22.2: Diversity indices. Biology LibreTexts.
https://bio.libretexts.org/Courses/Gettysburg_College/01%3A_Ecology_for_All/22%3A_Biodiversity/22.02%3A_Diversity_Indices
- Marcelino, V. R., Clausen, P. T. L. C., Buchmann, J. P., Wille, M., Iredell, J. R., Meyer, W., Lund, O., Sorrell, T. C., & Holmes, E. C. (2020). CCMetagen: comprehensive and accurate identification of eukaryotes and prokaryotes in metagenomic data. *Genome Biology*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02014-2>
- Mauvisseau, Q., Harper, L. R., Sander, M., Hanner, R. H., Kleyer, H., & Deiner, K. (2022). The Multiple States of Environmental DNA and What Is Known about Their

- Persistence in Aquatic Environments. *Environmental Science & Technology*, 56(9), 5322–5333. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c07638>
- Native Barcoding Kit 24 V14. (s.f.). Retrieved December 20, 2023, from <https://store.nanoporetech.com/native-barcoding-kit-24-v14.html>
- Oksanen J, et al. (2024). vegan: Community Ecology Package. R package version 2.7-0. <https://vegandevs.github.io/vegan/>
- Ortiz-Burgos, S. (2015). Shannon-Weaver Diversity Index. In *Encyclopedia of earth sciences series/Encyclopedia of earth sciences* (pp. 572–573). https://doi.org/10.1007/978-94-017-8801-4_233
- Paggi, A. (1999). Los Chironomidae como indicadores de calidad de ambientes dulceacuícolas. *ResearchGate*.
https://www.researchgate.net/publication/287493777_Los_Chironomidae_como_indicadores_de_calidad_de_ambientes_dulceacuicolas?enrichId=rgreq-f6f96a18f5c4ba708f6fb2d052f8cffb-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzI4NzQ5Mzc3NztBUzozMTQ5ODI0NjAyNjQ0NDhAMTQ1MjEwOTA3ODM5Nw%3D%3D&el=1_x_2&_esc=publicationCoverPdf
- Pires, A. P. F., Marino, N. a. C., Srivastava, D. S., & Farjalla, V. F. (2016). Predicted rainfall changes disrupt trophic interactions in a tropical aquatic ecosystem. *Ecology*, 97(10), 2750–2759. <https://doi.org/10.1002/ecy.1501>
- Primary producers. (2007). In *Springer eBooks* (pp. 105–134). https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5583-6_6

- Ptatscheck, C., Brüchner-Hüttemann, H., Kreuzinger-Janik, B., Weber, S., & Traunspurger, W. (2020). Are meiofauna a standard meal for macroinvertebrates and juvenile fish? *Hydrobiologia*, 847(12), 2755–2778. <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04189-y>
- R: *The R Project for Statistical Computing*. (2024). <https://www.r-project.org/>
- Reiss, J. (2021). The role of protozoans and microscopically small metazoans in aquatic plant litter decomposition. In *Springer eBooks* (pp. 217–233). https://doi.org/10.1007/978-3-030-72854-0_11
- Rico-Martínez, R., Arzate-Cárdenas, M. A., Robles-Vargas, D., Pérez-Legaspi, I. A., Alvarado-Flores, J., & Santos-Medrano, G. E. (2016). Rotifers as models in toxicity screening of chemicals and environmental samples. In *InTech eBooks*. <https://doi.org/10.5772/61771>
- Rishan, S. T., Kline, R. J., & Rahman, M. S. (2023b). Applications of environmental DNA (eDNA) to detect subterranean and aquatic invasive species: A critical review on the challenges and limitations of eDNA metabarcoding. *Environmental Advances*, 12, 100370. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2023.100370>
- Sabir, J. S. M. et al. (2019). Molecular evolution of cytochrome C oxidase-I protein of insects living in Saudi Arabia. *PLoS ONE*, 14(11), e0224336. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224336>
- Salas Gonzalez, I. (2019). *isaisg/ohchibi: iskali (v1.0.0)*. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.2593691>
- Search NCBI databases. (s.f.). NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/search/>
- Serôdio, J., & Lavaud, J. (2020). Diatoms and their ecological importance. In *Encyclopedia of the UN sustainable development goals* (pp. 1–9). https://doi.org/10.1007/978-3-319-71064-8_12-1
- Sierpe, C., & Sunico, A. (2019). Familia Chironomidae (Orden Díptera) utilizada como

- bioindicador para la determinación de calidad ambiental de la cuenca del Río Gallegos (Santa Cruz, Argentina). *Informes Científicos - Técnicos UNPA*, 11(2), 92–105. <https://doi.org/10.22305/ict-unpa.v11i2.789>
- Souza, H., Marchesin, S., & Itoyama, M. (2016). Analysis of the mitochondrial COI gene and its informative potential for evolutionary inferences in the families Coreidae and Pentatomidae (Heteroptera). *Genetics and Molecular Research*, 15(1). <https://doi.org/10.4238/gmr.15017428>
- Swistock, B. (2022). Interpreting water tests for ponds and lakes. *PennState Extension*. <https://extension.psu.edu/interpreting-water-tests-for-ponds-and-lakes#:~:text=Interpreting%20Water%20Tests%20for%20Ponds%20and>
- Tamaris-Turizo, C. E., Pinilla-A, G. A., & Muñoz, I. (2018). Trophic network of aquatic macroinvertebrates along an altitudinal gradient in a Neotropical mountain river. *Revista Brasileira De Entomologia*, 62(3), 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2018.07.003>
- Thomsen, P. F., & Willerslev, E. (2015). Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation*, 183, 4–18. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.019>
- Thorp, J. H., Covich, A. P., & Dimmick, W. W. (2010). Introduction to invertebrates of inland waters. In *Elsevier eBooks* (pp. 1–23). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374855-3.00001-7>
- UNESCO World Heritage Centre. (2024). *Galápagos Islands*. <https://whc.unesco.org/en/list/1/>
- Vidler, J. (2023, June 23). *The importance of mangroves - Galapagos Conservation Trust*. Galapagos Conservation Trust. <https://galapagosconservation.org.uk/the-importance-of-mangroves/>
- Younis, M. L., Rizk, E. T. E., Elewa, S. E., Abo-Elfotouh, O. M., & Mola, H. R. A. (2024).

Seasonal evaluation of heavy metals and zooplankton distribution and their co-relationship in the Rosetta branch area of the Nile Delta in Egypt. *Applied Water Science*, 14(4). <https://doi.org/10.1007/s13201-024-02121-6>

Zhang, Y., Xu, S., Sun, C., Dumont, H., & Han, B. (2021). A new set of highly efficient primers for COI amplification in rotifers. *Mitochondrial DNA Part B*, 6(2), 636–640. <https://doi.org/10.1080/23802359.2021.1878951>

Zorina-Sakharova, K., Liashenko, A. & Marchenko, I. (2014). Effects of Salinity on the Zooplankton Communities in the Fore-Delta of Kyliya Branch of the Danube River. *ResearchGate*.
[https://www.researchgate.net/publication/263916713 Effects of Salinity on the Zooplankton Communities in the Fore-Delta of Kyliya Branch of the Danube River](https://www.researchgate.net/publication/263916713_Effects_of_Salinity_on_the_Zooplankton_Communities_in_the_Fore-Delta_of_Kyliya_Branch_of_the_Danube_River)