



UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS

---

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO  
DIRECCIÓN DE POSTGRADO  
**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS, MENCIÓN  
CONSERVACION Y MANEJO DE RECURSOS NATURALES**

**ASPECTOS GENÉTICOS Y EPIGENÉTICOS DE LA ADAPTACIÓN LOCAL DE  
POBLACIONES NATURALES DE CHORITOS (*Mytilus chilensis*):**

**Relevancia para la conservación de recursos naturales**

Tesis presentada a la Universidad de Los Lagos como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctor en Ciencias, mención Conservación y Manejo de Recursos Naturales

POR

MARCO ANTONIO YÉVENES SOTO

Profesor Patrocinante: Dr. Gonzalo Gajardo

Comisión de Tesis: Dr. Cristián Canales  
Dr. Cristian Gallardo-Escárate  
Dr. Daniel Varela

Osorno, sur de Chile. Julio del 2021

## RESUMEN

El concepto de adaptación local es relevante para la biología evolutiva y de la conservación pues refleja cómo la selección natural delinea y mantiene las diferencias poblacionales de los fenotipos adaptativos y sus determinantes genéticos subyacentes en ambientes contrastantes. Este es un conocimiento valioso para predecir cómo las especies podrían responder al cambio climático u otras perturbaciones antrópicas. Esta investigación analiza las respuestas, plásticas y adaptativas, de los transcriptomas completos y mitocondriales de individuos *Mytilus chilensis*; nativos de dos bancos naturales ecológicamente diferentes, Cochamó (41° S) y Yaldad (43° S), que proveen de semillas a la industria miticultora y cuyo epicentro está en el mar interior de la Isla de Chiloé. La pregunta central del estudio es si los individuos de estas localidades geográficamente distantes y ecológicamente contrastantes son adaptativamente divergentes, a pesar de las translocaciones de hábitat a las que son sometidas. Para ello se realizó un experimento de trasplante recíproco, una prueba “ácida” para detectar adaptación local, el que duró 91 días. Los resultados más relevantes de este estudio son: 1) el transcriptoma completo de *Mytilus chilensis* ensamblado de novo (RNA-Seq) desde RNA de branquias y de manto, consistente en 189 743 contigs de consenso, de los cuales 7 900 (fold change  $\geq |4|$ ,  $p_{\text{value}} \leq 0,05$ ) se expresaron diferencialmente (DETs). 2) Estos DETs evidenciaron patrones de expresión tejido- y localidad- específicos, plásticos y adaptativos, similares a los esperados por pleiotropía antagónica al aplicar los criterios operacionales “*local vs. foreign*” ( $\delta_{LF}$ ) y “*home vs. away*” ( $\delta_{HA}$ ) para adaptación local. 3) La caracterización genética de sus secuencias nucleotídicas reveló que 169 DETs de Cochamó y 150 de Yaldad exhibieron 2 091 y 1 940 de variantes genéticas (GVs) monomórficas ( $f > 0,99$ ), respectivamente, fijadas localmente que probablemente corresponden a SNPs expresados diferencialmente en el DNA, que segregan en la población general. También los transcriptomas mitocondriales exhibieron diferencias adaptativas en su funcionamiento y variantes genéticas monomórficas localidad-específicas, 78 en los individuos de Cochamó y 207 en los de Yaldad. Por otra parte, la caracterización epigenética realizada a partir del análisis *in silico* de las secuencias nucleotídicas de DETs polimórficos, permitió reconocer, diferenciar y seleccionar genes candidatos con expresión diferencial localidad-específicos potencialmente metilables vinculados con el *fitness*, y cuyos patrones de restricción polimórfica proporcionaron un modelo esperado de tipo RFLP para los DNA de estas muestras, los que pueden ser usados con fines de conservación y manejo de choritos. Dada la detección y

anotación rigurosa de DETs portadores de variantes genéticas (GVs) monomórficas localidad-específicas y de islas CpG con loci cccg potencialmente metilables, la contribución más significativa de esta tesis es demostrar que, además de respuestas plásticas al cambio de hábitat en el funcionamiento de sus genomas, los individuos de *Mytilus chilensis* de estas localidades de Cochamó y Yaldad conservan adaptaciones locales, a pesar del impacto de las traslocaciones debido a su explotación y la baja diferenciación genética reportada para diferentes bancos naturales de semillas de la especie. Así, esta investigación aporta múltiples marcadores genéticos, y probables epigenéticos, para el monitoreo de la diversidad genética en genes subyacentes a fenotipos adaptativos de *Mytilus chilensis*, lo cual es necesario para conservar y manejar adecuadamente los bancos naturales en un contexto de explotación. Asimismo, las variantes fijadas en múltiples genes nucleares y mitocondriales dan cuenta de las presiones selectivas locales, las que pueden servir como fuente de nuevas variantes funcionales para apoyar el cultivo sostenible de esta especie.

#### **PALABRAS CLAVE**

Biología evolutiva; Adaptaciones locales; Genética; Epigenética; *Mytilus chilensis*.

## ABSTRACT

The concept of local adaptation is relevant to evolutionary and conservation biology as it reflects how natural selection delineates and maintains the population differences of adaptive phenotypes and their underlying genetic determinants in contrasting environments. This is valuable knowledge for predicting how species might respond to climate change or other human disturbances. This research analyzes the responses, plastic and adaptive, of the whole and mitochondrial transcriptomes of individuals *Mytilus chilensis*; natives of two ecologically different natural seedbeds, Cochamó (41 ° S) and Yaldad (43 ° S), which provide seeds to the miticulture industry and whose epicenter is in the interior sea of Chiloé Island. The central question of the study is whether the individuals from these geographically distant and ecologically contrasting locations are adaptively divergent, despite the habitat translocations to which they are subjected. For this, a reciprocal transplant experiment was carried out, an "acid" test to detect local adaptation, which lasted 91 days. The most relevant results of this study are: 1) the complete de novo assembled *Mytilus chilensis* transcriptome (RNA-Seq) from gill and mantle RNA, consisting of 189,743 consensus contigs, of which 7,900 (fold change  $\geq |4|$ ,  $p_{\text{value}} \leq 0.05$ ) were differentially expressed (DETs). 2) These (DETs) showed specific, plastic and adaptive tissue- and locality- expression patterns, similar to those expected for antagonistic pleiotropy when applying the operational criteria "local vs. foreign" ( $\delta_{\text{LF}}$ ) and "home vs. away" ( $\delta_{\text{HA}}$ ) for local adaptation. 3) The genetic characterization of their nucleotide sequences revealed that 169 DETs from Cochamó and 150 from Yaldad exhibited 2,091 and 1,940 monomorphic genetic variants (GVs) ( $f > 0.99$ ) respectively, fixed locally that mostly correspond to differentially expressed SNPs in DNA, but segregating in the general population. Mitochondrial transcriptomes also exhibited adaptive differences in their functioning and locality-specific monomorphic genetic variants, 78 in mito-transcriptomes of individuals from Cochamó and 207 in those from Yaldad. On the other hand, the epigenetic characterization carried out from the in-silico analysis of the nucleotide sequences of polymorphic DETs, allowed to recognize, differentiate and select potentially methylatable candidate genes, with locality-specific differential expression linked to fitness, and whose polymorphic restriction patterns provided a DNA-RFLP-like expected model for these samples, which can be used for conservation and management of mussels. Given the rigorous detection and annotation of DETs carrying locality-specific monomorphic genetic variants (GVs) and CpG islands with potentially methylatable

ccgg loci, the most significant contribution of this thesis is to demonstrate that, in addition to plastic responses to habitat change in the functioning of their genomes, the individuals of *Mytilus chilensis* from these localities of Cochamó and Yaldad retain local adaptations, despite the impact of translocations due to their exploitation and the low genetic differentiation reported for different natural seedbeds of the species. Thus, this research provides multiple genetic markers, and putative epigenetic ones, for the monitoring of genetic diversity in genes underlying adaptive phenotypes of *Mytilus chilensis*, which is necessary to conserve and properly manage natural seedbeds in a context of exploitation. Likewise, the variants fixed in multiple nuclear and mitochondrial genes account for local selective pressures, which can serve as a source of new functional variants to support the sustainable cultivation of this species.

## **KEYWORDS**

Evolutionary biology; Local adaptations; Genetics; Epigenetics; *Mytilus chilensis*.