

Delimitación molecular del pez-lápiz (*Nannostomus unifasciatus*) distribuida en las cuencas del Orinoco y el Amazonas utilizando códigos de barra de ADN.

Arys Leudo¹, Deisy Andrea Posada¹, Marcela Mora¹, Yamile Sánchez¹ y José Gregorio Martínez²

1. Estudiante de Biotecnología. Facultad de Ciencias de la Salud. I.U. Colegio Mayor de Antioquia.

2. Docente Biotecnología. Grupo Biociencias. Facultad de Ciencias de la Salud. I.U. Colegio Mayor de Antioquia

Correspondencia: Jose.martinez@colmayor.edu.co

INTRODUCCIÓN

La implementación de la técnica DNA *Barcoding* (código de barras de ADN), basada en la secuenciación del fragmento citocromo oxidasa subunidad I (COI) del gen mitocondrial (1), ha permitido la identificación de **complejos crípticos**: especies con características morfológicamente similares, pero con una divergencia genética significativa (2). Un ejemplo de estas son las pertenecientes al género *Nannostomus*, las cuales son de gran interés económico, por ser altamente exportadas como pez ornamental (3). Se sospecha que en cuencas del **Orinoco y el Amazonas** hay más de una especie con distribución local restringida compartiendo el mismo fenotipo, y es posible que algunas de estas se estén llevando a la extinción aun sin saber que existen, por esto, el **objetivo** de esta investigación es identificar molecularmente la especie *Nannostomus unifasciatus* distribuida en las cuencas del Orinoco y el Amazonas utilizando DNA *Barcoding*, con el fin de implementar políticas futuras de conservación concretas que eviten la desaparición de las mismas.

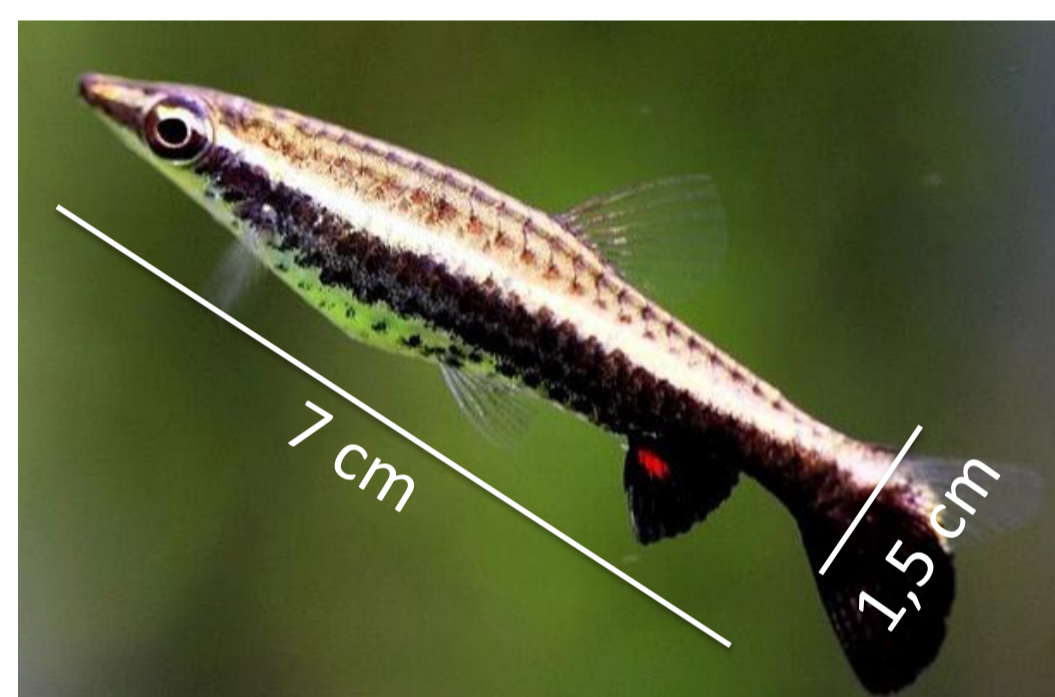


Figura 1. *Nannostomus unifasciatus*, familia Lebiasinidae (1)

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de los especímenes

Se recolectaron un total de 77 peces ornamentales (*Nannostomus* sp.), 17 controles positivos y 2 especies externas hermanas, distribuidos como se muestra en el cuadro 1

Cuadro 1. Sitios de muestreo *Nannostomus* sp.

● Cuencas Orinoco		● Cuenca Amazonas	
Localidad	Nº de muestras	Localidad	Nº de muestras
San José del Guaviare (GV)	9	Santa Isabel (SI)	13
Puerto Gaitán (PG)	10	Cucui (CUC)	11
Puerto Inírida (IN)	10	Barcelo (BAR)	16
Puerto Carreño (CAR)	8		

Obtención, amplificación y secuenciación del ADN barcode

Extracción de ADN genómico, amplificación del gen citocromo oxidasa sub unidad 1 (COI), secuenciación en Sanger ABI 3500 (4)

Análisis de secuencias

BioEdit (edición y alineamiento de secuencias), modelos de delimitación (mPTP, LocMin, y GMYC) y a través de la plataforma R-Studio

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

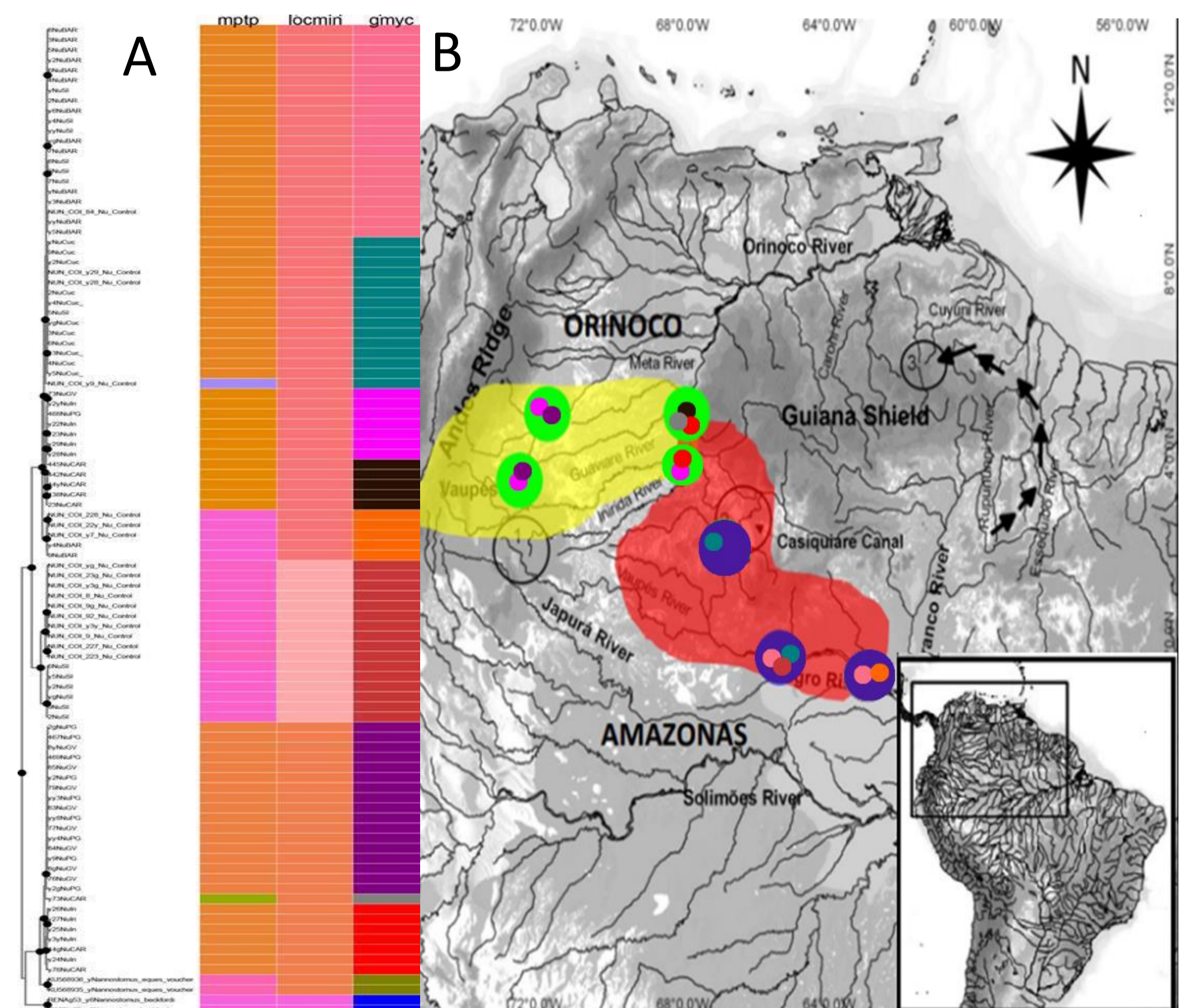


Fig. 1 A. Árbol filogenético de *Nannostomus* sp. generado por R-studio analizado bajo algoritmos mPTP, LocMin, y GMYC. B. Mapa geográfico de las siete localidades de muestreo ubicadas en las cuencas del Orinoco y Amazonas brasileño.

Cuadro 2. Distribución de especies molecularmente identificadas por *Barcoding* en las cuencas del Orinoco y Amazonas.

Especie	Cuenca Orinoco	Cuenca Amazonas
1		X
2		X
3	X	
4	X	
5		X
6		X
7	X	
8	X	
9	X	

CONCLUSIÓN

La técnica del ADN *Barcoding* permitió la identificación de especies crípticas. El mejor de todos los algoritmos matemáticos para delimitar especies fue el GMYC, pues fue el único capaz de discriminar las dos especies externas (*N. beckfordi* y *N. eques*), además, permitió identificar nueve especies crípticas dentro de los que se conoce como *Nannostomus unifasciatus*; cuatro se encuentran distribuidas solo en Amazonas y cinco en el Orinoco (Cuadro 2).

REFERENCIAS

- (1) Bingpeng X, Heshan L, Zhilian Z, Chunguang W, Yanguo W, Jianjun W. DNA barcoding for identification of fish species in the Taiwan Strait. PLoS ONE, 2018; 13(6): e0198109. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198109>
- (2) Pinedo Tenazona LR. Caracterización morfológica y molecular de las especies de peces ornamentales comercializados en la ciudad de Iquitos (Amazonía peruana) 2016 [Tesis de grado]. San Juan: Universidad científica del Perú. Facultad de Ciencias e Ingeniería, 2018.
- (3) Benzaquem DC, Oliveira C, da Silva BJ, Zuanon J, Porto JIR. DNA Barcoding in Pencilfishes (Lebiasinidae: *Nannostomus*) Reveals Cryptic Diversity across the Brazilian Amazon. PLoS ONE, 2015; 10(2): e0112217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112217>
- (4) Ivanova NV, Zemlak TS, Hanner RH & Hebert PDN. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. Molecular Ecology Notes. 2007; 7(4): 544–548.