

Identificación y delimitación espacial de la especie *Pterophyllum altum* entre las cuencas de los ríos Orinoco y Negro (Amazonas) utilizando códigos de barra de ADN

José Gregorio Martínez^{1,3}, Juan Diego Ortiz López², Laura María Montoya Montoya², Luis Fernando Arango Ochoa², Tomas Hrbek³, Izeni Pires Farias³

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

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

3. Laboratorio de Evolución y Genética Animal. Universidad Federal del Amazonas, Brasil.

Correspondencia: jose.martinez@colmayor.edu.co

INTRODUCCIÓN

Desde la biología clásica se sabe que las especies son la unidad básica operacional en los modelos de clasificación taxonómica, y que su identificación por métodos morfológicos son de vital importancia para el estudio de la diversidad y su conservación. No obstante, otra parte de la biología moderna demuestra que no siempre la especiación se ve acompañada de cambios morfológicos, por lo que un morfotipo puede enmascarar más de una especie. Así, esta última propone métodos de identificación con grados de confiabilidad más elevados a través de marcadores moleculares, los cuales posibilitan el reconocimiento de especies morfológicamente similares pero con una divergencia genética significativa (Peterson & Eernisse, 2001). A estas especies se les denomina "especies crípticas", las cuales usualmente son clasificadas por error dentro de un mismo taxón cuando realmente son diferentes molecularmente (Ward, 2009). Este puede ser el caso del pez ornamental *Pterophyllum altum* con respecto a otras especies congéneres (p.e. con *Pterophyllum scalare*), sobre los cuales, además, no se conoce su verdadera distribución ni límites espaciales entre el Orinoco y Amazonas. Para ello, el código de barras de ADN o "barcode" es una herramienta utilizada para la identificación de especies y ha sido adoptado por la FDA como una prueba reguladora de muestras en peces (Pollack *et al.*, 2017). Esta técnica se basa en la secuenciación de una región de aprox. 650pb del gen citocromo oxidasa (COX1) mitocondrial, y es capaz de discriminar una amplia variedad de especies animales (Ward, 2009). Así, el objetivo de esta investigación fue identificar y delimitar espacialmente la especie *Pterophyllum altum* entre las cuencas de los ríos Orinoco y Negro (Amazonas) utilizando códigos de barra de ADN, generando bases científicas para su conservación y regulación de su sobreexplotación pesquera.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

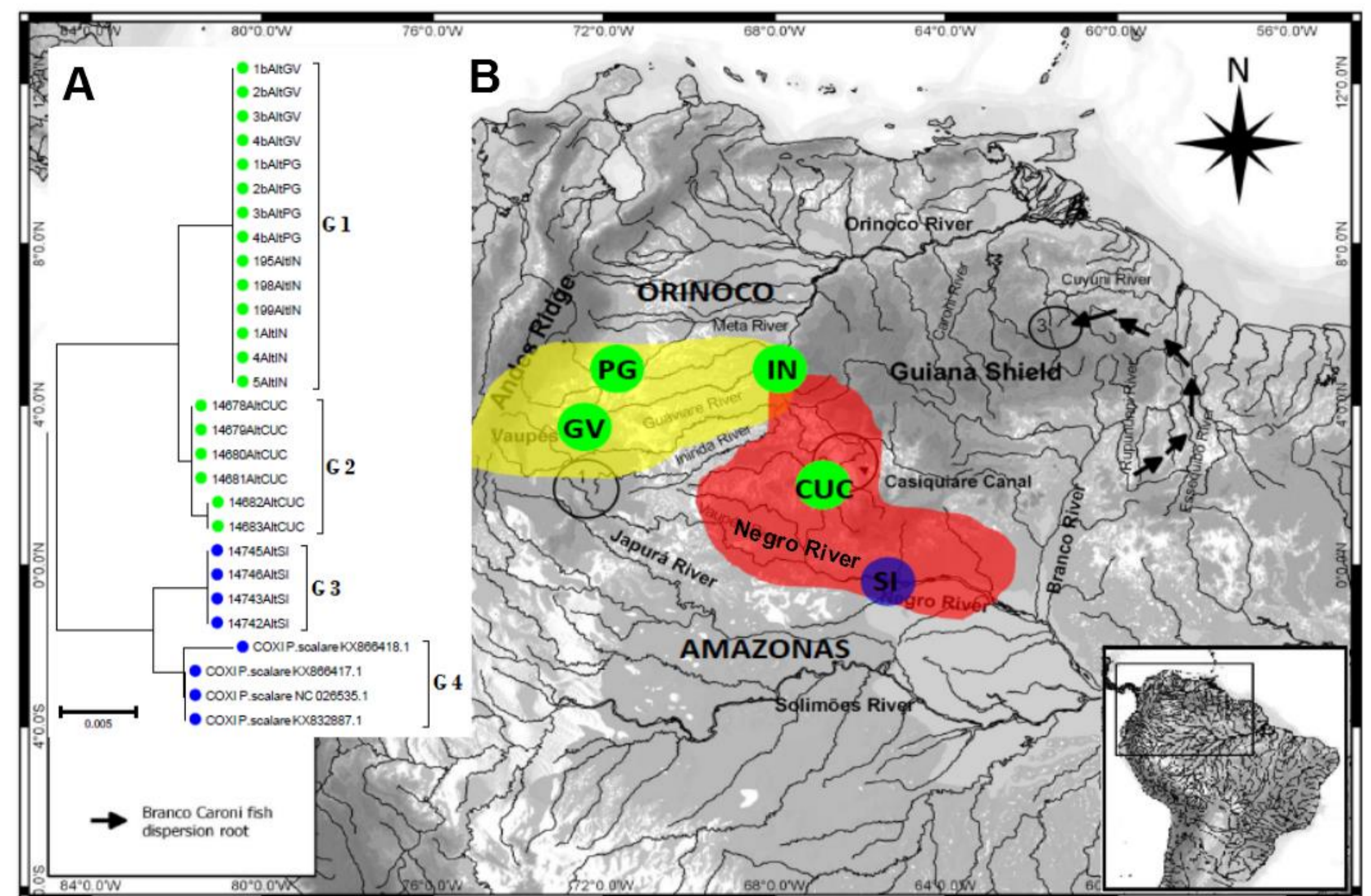


Figura 1. A, Cladograma de Neighbor Joining bajo modelo evolutivo (Kimura 2-parámetros). Grupo 1 (G1): PG+IN+GV; Grupo 2 (G2): CUC; Grupo 3 (G3): SI; Grupo 4 (Control positivo de *P. scalare* del GenBank). B, Mapa geográfico de las cinco localidades de muestreo (Puerto Gaitán/PG, Inírida/IN, Guaviare/GV, Cucui/CUC y Santa Isabel/SI) ubicadas en las cuencas altas de los ríos Orinoco y Negro (en el Amazonas brasileiro). Colores iguales denotan distancias genéticas menores a 2%.

Tabla 2. Distancia genética no corregida. Límite intraespecífico máximo del 2% para considerar individuos pertenecientes a una misma especie.

	1	2	3
1. Grupo 1			
2. Grupo 2	0,50%		
3. Grupo 3	5%	4,70%	
4. Grupo 4 (<i>P. scalare</i> GenBank sequences)	4,90%	4,60%	0,60%

CONCLUSIÓN

Los individuos muestreados en las tres localidades del río Orinoco colombiano (PG, GV, IN) y los peces de la localidad del Cucui (CUC) en Brasil, poseen diferencias moleculares mínimas, siendo identificados como una única especie de *P. altum*. Por el contrario, los individuos colectados en la localidad de Santa Isabel, en el río Negro del Amazonas brasileiro, fueron identificados como una especie diferente (*P. scalare*).

A pesar de esto, la población de Cucui se muestra genéticamente estructurada, indicando el inicio de una trayectoria evolutiva independiente, recomendándose priorizar la conservación de los animales encontrados en esta localidad como un área con biodiversidad única e insustituible, debido a la condición sedentaria de la especie.

Por último, los gobiernos de Colombia y Brasil deberían unir esfuerzos para implementar una legislación que promueva políticas más homogéneas respecto a la conservación de este recurso, que gracias a este estudio, se descubrió que es compartido entre los países: *P. altum*.

REFERENCIAS

- Ivanova NV, Zemlak TS, Hanner RH & Hebert PDN. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes*. 2007; 7(4): 544-548.
- Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*. 1980; 16(2):111-120.
- Peterson KJ & Eernisse DJ. Animal phylogeny and the ancestry of bitofians: inferences from morphology and 18S rDNA gene sequences. *Evolution and Development*. 2001; 3(3): 170-205.
- Ward. DNA barcode divergence among species and genera of birds and fishes. *Molecular Ecology Resources*. 2009; 9, 1077-1085.

Recolección de los especímenes

Se recolectaron un total de 24 peces ornamentales (*Pterophyllum altum*), distribuidos como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Sitios de colección de las muestras *P. altum*

Río Orinoco		Río Negro (Amazonas)	
Localidad	Nº de muestras	Localidad	Nº de muestras
San José del Guaviare (GV)	4	Santa Isabel (SI)	4
Puerto Gaitán (PG)	4	Cucui (CUC)	6
Puerto Inírida (IN)	6		

Obtención, amplificación y secuenciación del ADN barcode

-Extracción de ADN genómico (Sambrook *et al.*, 1989)

-Amplificación del gen citocromo oxidasa (COX1) (Ivanova *et al.*, 2007).

-Secuenciación en Sanger ABI 3500.

Análisis de datos de secuencia

-BioEdit: edición y alineamiento de secuencias (Hall, 1999).

-Mega 7 Graphical (Kumar *et al.*, 1993).

Análisis de Neighbor Joining

Distancia genética no corregida 2% (Ward, 2009).