



ANDESIOPS PERUVIANUS (EPHEMEROPTERA: BAETIDAE): EVIDENCIA MOLECULAR DE UN COMPLEJO DE ESPECIES

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Andesiops peruvianus Ulmer (1920), es una especie ampliamente distribuida en la región andina, utilizada como bioindicadora de calidad del agua. Considerando su amplia distribución geográfica, variabilidad morfológica, y estudios moleculares recientes como el de Ossa et al. (2018) exponen diferencias dentro de *A. peruvianus*, aunque resaltan la importancia de evaluar más especímenes, para soportar la presencia de un complejo de especies, como ha sucedido en muchas especies crípticas o *pseudocripticas*, como en el caso de *Baetis rhodani* y *Baetis alpinus* de la familia Baetidae (Finn et al., 2014). Es así, que en el presente estudio se plantea evaluar algunos caracteres morfológicos, y moleculares amplificando el gen citocromo c oxidasa I, en especímenes de *A. peruvianus* colectados previamente en diferentes afluentes de la zona rural de los municipios de Manizales y Villamaría (Caldas, Colombia).

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Las distancias genéticas intraespecíficas obtenidas por el marcador mitocondrial citocromo c oxidasa I, permiten soportar si *A. peruvianus* es un complejo de especies o una especie con elevada variabilidad genética?

OBJETIVO GENERAL

Determinar las distancias intraespecíficas de individuos *A. peruvianus* a través de marcador mitocondrial citocromo c oxidasa I.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Evaluar caracteres morfológicos que permitan determinar si en los individuos de *A. peruvianus* sensu lato (s.l.), existen algunas características morfológicas diferenciales que se puedan asociar con las distancias genéticas.
- ✓ Estimar las divergencias genéticas de las secuencias del gen citocromo c oxidasa I del ADNmt en *A. peruvianus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Evaluación morfológica de los organismos
Extracción del ADN
Amplificación y Secuenciación
Análisis de las Secuencias

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Los 15 individuos evaluados (Fig. 1; Tabla 1) morfológicamente quedaron incluidos en tres de los cuatro grupos reportados por Ossa et al. (2018) principalmente por las características de las branquias (Fig. 2A-C). Aunque algunas ninfas estudiadas difieren en el número de denticulos en las uñas tarsales (se amplía el rango), estas variaciones podrían atribuirse a la función de las estructuras y las variables ambientales que podrían influenciar en el *fitness* de los organismos (Ditsche-Kuru et al., 2012). Se logró extraer ADN del tórax con calidad entre 1,41 y 2,03 en una relación de absorbancia de 260-280 nm con concentraciones entre 62,167 y 680,5 ng/μL (Amaru et al., 2006). La eficiencia de los iniciadores para flanquear el gen COI del ADNmt fue del 100% con unos productos de amplificación entre 600 - 710 pb de acuerdo a lo reportado por Folmer et al. (1994). Las secuencias analizadas (*Blastn*) en BOLD y NCBI (*GenBank*) muestran una identificación molecular con identidad entre el 83% y el 100%. Seis unidades taxonómicas fueron determinadas con el *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD; Puillandre et al., 2012), con una divergencia previa intraespecífica de 0.001 a 0.1 al analizar las secuencias del presente estudio, las reportados por Ossa et al. (2018) y Finn et al. (2016). Esta primera determinación concuerda con lo reportado por Ossa et al. (2018), aunque se obtiene un nuevo grupo molecular (grupo 5). Las mismas unidades taxonómicas también fueron determinadas por el PTP (modelo evolutivo HKY+G+I y *A. torrens* como grupo externo) (Fig. 3). La divergencia genética de las secuencias dentro de las unidades taxonómicas (seis grupos) mostró distancias entre 0 y 4,7%, mientras que los valores de divergencia genética entre las unidades taxonómicas (seis grupos) de *A. peruvianus* variaron entre 18,6 y 28,9%, siendo éstas últimas mayores a las reportadas por Ossa et al. (2018). Los resultados obtenidos en los análisis moleculares no concuerdan con todos los resultados morfológicos cuando el número de especímenes se incrementa, lo que indica que *Andesiops peruvianus* representa un complejo de especies crípticas.

Tabla 1. Grupos intraespecíficos de los especímenes analizados como *A. peruvianus* s.l.

Grupo 01	Grupo 02	Grupo 03
E85	E14	E20
E132	E21	E64
E40	E74	E131
E101	E26	E139
E140		
E98		
E116		



Figura 1. Ninfa (macho) de *A. peruvianus* s.l.

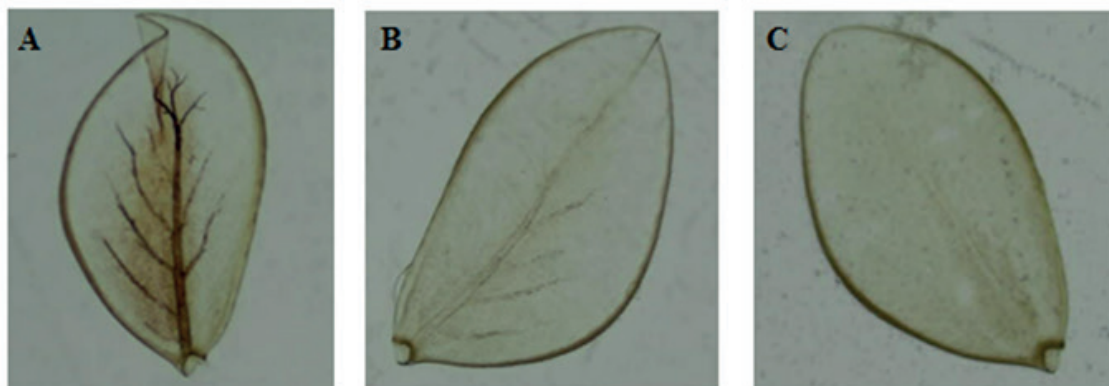


Figura 2. Variaciones en las branquias abdominales de las ninfas de *A. peruvianus* s.l. (A) Branquias ampliamente traqueoladas. (B) branqueas traqueoladas (menos marcadas que para el Grupo 1). (C) Branquias traqueoladas muy suaves.

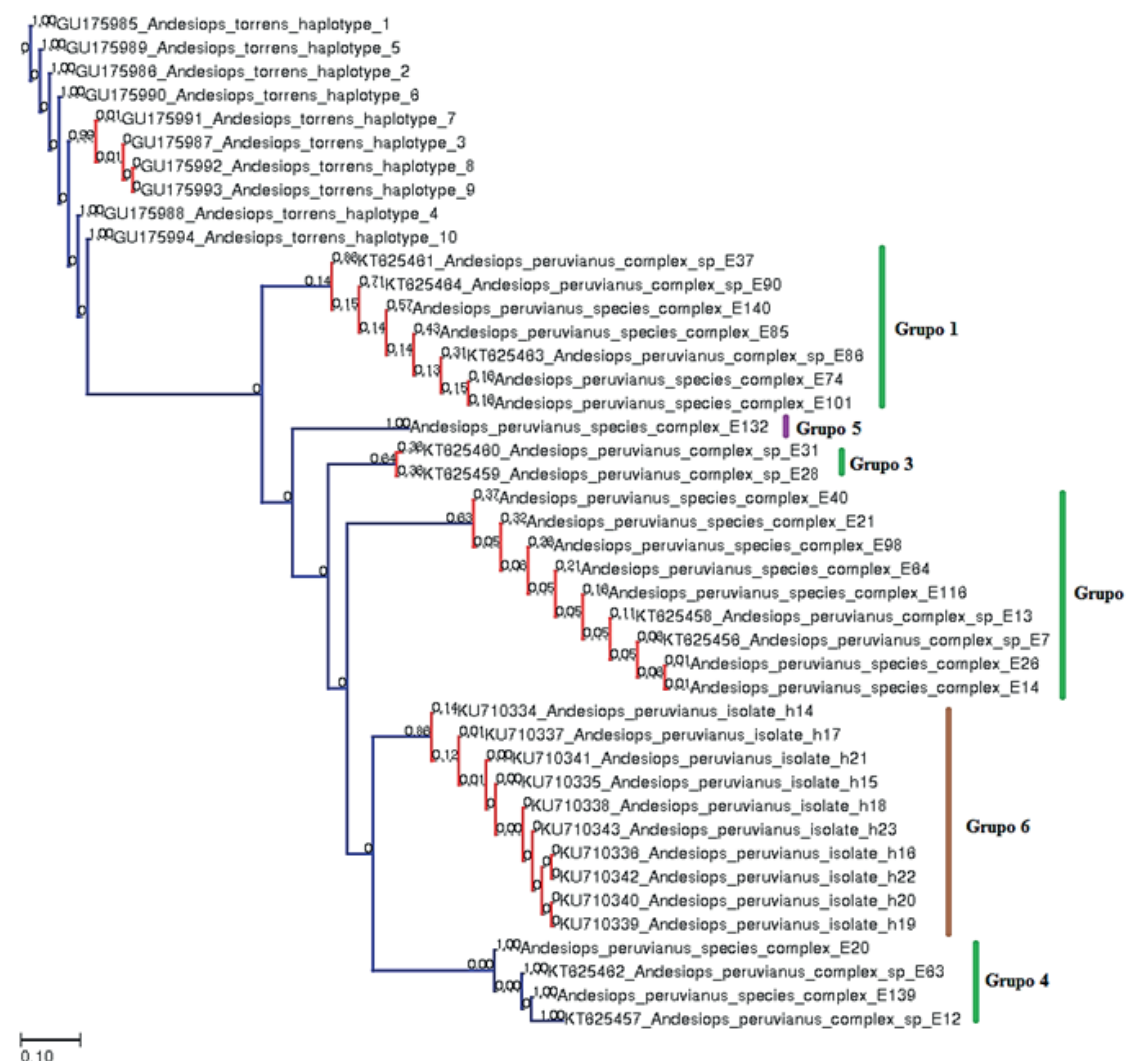


Figura 3. El modelo Poisson Tree Processes (PTP) para inferir límites de especies putativas en un árbol filogenético del gen COI del ADNmt. Las ramas son la partición de los valores de máxima verosimilitud.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaru R, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Silvestre J, Cuevas H (2006) - DNA-UMSagen, extracción de DNA genómico para diagnóstico molecular: método rápido y económico. Cuadernos, 2: 11-15.
- Ditsche-Kuru P, Barthlott W, Koop JH (2012) At which surface roughness do claws cling? Investigations with larvae of the running water mayfly *Epeorus assimilis*
- Finn DS, Zamora-Muñoz C, Múrria C, Sáinz-Bariáin M, Alba-Tercedor J (2014) Evidence from recently deglaciated mountain ranges that *Baetis alpinus* (Ephemeroptera) could lose significant genetic diversity as alpine glaciers disappear. *Freshwater Science* 33: 207-216.
- Finn, D. S., A. C. Encalada & H. Hampel (2016). Genetic isolation among mountains but not between stream types in a tropical high-altitude mayfly. *Freshwater Biology* 61: 702–714.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz, R, Vrijenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294–299.
- Ossa-López, P.A., M. I. Camargo-Mathias & F. A. Rivera-Páez (2018) *Andesiops peruvianus* (Ephemeroptera: Baetidae): a species complex based on molecular markers and morphology. *Hydrobiologia* 805: 351–364.
- Puillandre, N., A. Lambert, S. Brouillet & G. Achaz (2012) ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology* 21: 1864–1877.

G7H0141 LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Docente responsable: Paula Andrea Ossa López / paula.ossa@ucaldas.edu.co

Estudiantes: Alpala-Alpala Alba M., Bedoya-Aguirre Jhoan S., Beltran-Gonzalez Santiago, Caicedo-Guerrero Dayanni A., Campo-Puni Eduar D., Erazo-Perez Camila A., Giraldo-Echavarria Daniel, Moreno-Gómez Edwin A., Quina-Núñez Laura N., Rosero-Taramuel Janeira L., Sánchez-Londoño Laura, Castaño Angie V., Flórez-Padilla Juliana M, Franco-Torres Mariana, Giraldo-Naranjo Jessica T., Hernández-Osorio Leonardo, Marín-Sánchez Esteban, Ramírez-Valencia María A., Rivillas-Carmona María A., Román-Guzmán Brandon, Sánchez-Rendón Julio C., Terán-Sánchez Sofía, Toro-Tabares Diego F., Torres-Arteaga Juanita, Trejos-Marín Angela L., Vera-Castro Daniel, Arcila-Ibañez Luna M., Cárdenas-Restrepo Daniel, Criollo-Popayan Kelin D., Jaramillo-Castrillón Manuela, Escobar-Granada Santiago, López-Rivera Camila1, Mancilla-Agrono Lorys Y., Marín-Arenas Yesica A., Perdomo-Cáceres María D., Pérez-Pérez Daniela, Pérez-Tapie Karol D., Quintero-Ríos Daniela, Torres-Gutiérrez Karen D., Velásquez-Blanco Daniel, Morales-López Erika, Carvajal-Agudelo Juan David (monitor).