

## Caracterización molecular del pez dorado (*Coryphaena hippurus*) en el Pacífico colombiano utilizando marcadores moleculares RAMs

Bruna R. Caetano N.<sup>2,3</sup>; Angela I. Guzman<sup>2</sup>; John J. Selvaraj<sup>2</sup>; Andrés M. Posso T.<sup>1</sup>; Jaime E. Muñoz<sup>1</sup>; Marcela E. Ordoñez M.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Diversidad Biológica. <sup>2</sup>Grupo de Recursos Hidrobiológicos. <sup>3</sup>Grupo de Recursos Fitogenéticos Neotropicales. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. E-mail autor principal: brcaetanon@unal.edu.co.

**Palabras clave.** Peces marinos, pez dorado, conservación, diversidad genética, estructura poblacional.

El pez Dorado *Coryphaena hippurus* es un recurso importante para el desarrollo pesquero del Pacífico colombiano. No obstante faltan estudios regionales sobre su estructura genética poblacional, factor decisivo para la conservación y manejo de los recursos pesqueros. Los microsátélites aleatorios RAMs son útiles para la caracterización genética de poblaciones, por su alto polimorfismo, poder de discriminación y por la relación encontrada entre los agrupamientos biológicos. El objetivo del estudio fue evaluar la diversidad genética de esta especie utilizando marcadores moleculares RAMs, y establecer la relación entre grupo genético y origen geográfico en *C. hippurus* en el Pacífico colombiano.

### Metodología

**Recolección de muestras.** En noviembre de 2009 se realizó un crucero en la Zona Económica Exclusiva (EEZ) del Pacífico colombiano, una cooperación entre la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia (MADR) y la empresa pesquera Sepúlveda Rogers Cia. Ltda. Se recolectaron muestras de aleta dorsal de los individuos capturados en los sitios históricamente productivos, identificados por los frentes térmicos, en las costas de los departamentos de Chocó (norte del país), Valle del Cauca (centro) y Nariño (sur). En 2010 y 2011 varios pescadores artesanales enviaron muestras provenientes de Nariño. Todas las muestras fueron conservadas en alcohol etílico a 70% y mantenidas a 4 °C hasta su análisis.

**Extracción de ADN.** El ADN fue extraído con proteinasa K a partir de la digestión de la aleta dorsal de 56 individuos. Se utilizó el kit de extracción de ADN para sangre y tejido animal DNeasy® Blood y Tissue, Quiagen (Valencia, California). Para la cuantificación del ADN se realizó electroforesis con concentraciones conocidas del bacteriófago Lambda.

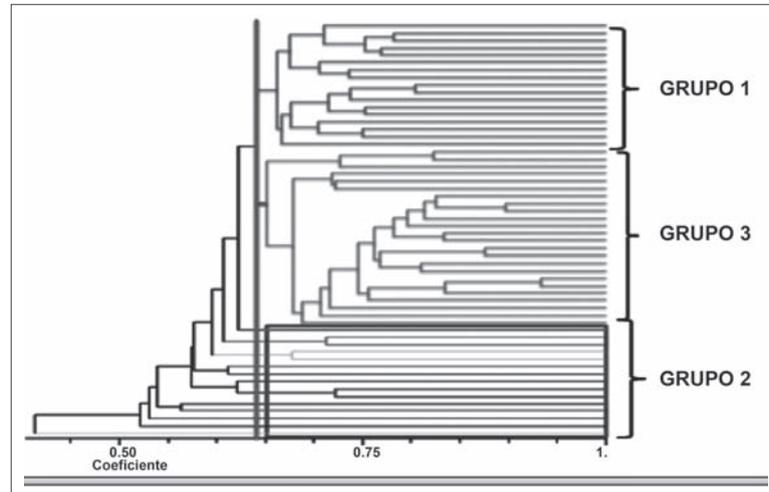
**PCR (reacción en cadena de polimerasa) y electroforesis.** Para la PCR, empleando la técnica RAMs, se utilizaron cebadores (AG, CCA, CT y CGA) que contienen 18 nucleótidos. Las reacciones para la amplificación fueron realizadas en un volumen de 25ul y una concentración de 10ng de DNA, 1x de Buffer Taq, 2.5mM de MgCl<sub>2</sub>, 0.02mg/μl de BSA, 0.6 mM de cebador, 0.5 U Taq polimerasa, 1.25mM de cada dNTP. Las condiciones de PCR fueron distintas para cada primer. El amplificado de PCR se visualizó en geles de poliacrilamida 6% (relación acrilamida y bisacrilamida de 37:1). La lectura de los geles se realizó con base en el criterio de Berg y Hamrick (1997). Se generó una matriz de variables binarias de ceros y unos (ausencia o presencia).

**Análisis de datos.** Se utilizó el índice de similitud de Dice Nei-Li. El análisis de agrupamiento se realizó con el programa SAHN de NTSYS-pc (versión 2.02, 1998) utilizando UPGMA. El dendrograma se construyó con el programa TREE de NTSYS-pc (versión 2.02, 1998). Se realizó un análisis de correspondencia múltiple (ACM) y para estimar la diversidad genética se utilizaron heterocigosidad promedio esperada (He) y el porcentaje de loci polimórficos (P), de acuerdo con la fórmula no sesgada de Nei (1973). Para estimar las distancias genéticas entre los grupos se utilizó el coeficiente de diferenciación genética (F<sub>st</sub>). Se realizó un análisis de varianza molecular utilizando el programa GenAlex versión 6.2 para evaluar la relación entre los sitios geográficos de procedencia de las muestras.

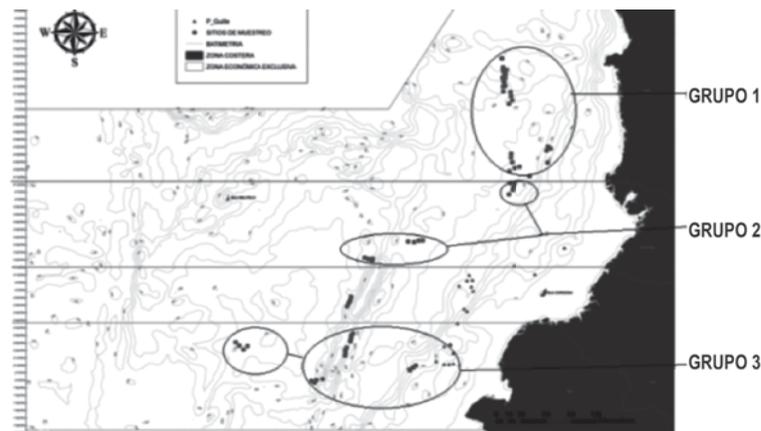
### Resultados

La heterogeneidad esperada total fue de 0.2230 y el porcentaje de loci polimórficos de 62.63%. Se encontró una moderada diferenciación genética (F<sub>ST</sub>) de 0.086, reflejando la presencia de una estructura genética entre las regiones evaluadas, a pesar de la cercanía geográfica. Con el coeficiente de Dice Nei-Li por el método UPGMA se formaron tres grupos, a un nivel de similitud de 0.64 (Figura 1). Los grupos 1 y 3 correspondieron a los individuos recolectados en las regiones Norte y Sur, frente a los departamentos de Chocó y Nariño, respectivamente. El grupo 2 estuvo conforma-

do por nueve subgrupos de diferentes genotipos, con individuos pertenecientes a las tres regiones de la Cuenca Pacífica Colombiana (CPC) (Figura 2), destacándose los recolectados frente al departamento del Valle del Cauca. Esto refleja una relativa estructuración genética de acuerdo con la distribución geográfica. La región Centro (frente al departamento del Valle del Cauca) constituye una zona que proporciona condiciones ambientales que garantizan un proceso reproductivo exitoso. El Amova (Análisis de Varianza Molecular) mostró que 92% de la variación genética total se presentó por la variación entre individuos dentro de las regiones, donde solamente el 8% se debió a la variación entre las regiones.



**Figura 1.** Dendrograma obtenido con el coeficiente de similitud de Nei-Li para *C. hippurus* en el Pacífico colombiano, mostrando una relativa estructura genética según la distribución geográfica.



**Figura 2.** Distribución espacial de grupos de diversidad genética de *C. hippurus* encontrados en el Pacífico colombiano.

### Conclusión

El análisis de la estructura genética basado en marcadores moleculares RAMs sugiere la existencia de dos poblaciones de pez dorado en el Pacífico colombiano, implicando un manejo diferenciado de la especie, lo que en el largo plazo puede garantizar su mantenimiento como recurso pesquero, biológico y económico.

### Agradecimientos

Al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (Proyecto: 2007T6605-353), a las empresas pesqueras Sepúlveda Rogers Cia. Ltda y Los Amigos, Laboratorio de Biología Molecular (UNAL/Palmira), Grupo de Investigación: Recursos Hidrobiológicos y DIPAL (UNAL/Palmira).