



APLICACIÓN DEL BARCODING PARA LA ESTIMACIÓN DE LA DIVERSIDAD ESPECÍFICA DE LA FAMILIA LORICARIIDAE (PISCES: SILURIFORMES) EN LA REGIÓN SAN MARTÍN, AMAZONÍA PERUANA

Carlos ANGULO^{1,2,4}, Dixner RENGIFO^{1,2} Manuel NAVAS², Erick DEL ÁGUILA²,
Diana CASTRO-RUIZ^{1,2,4}, Homero SÁNCHEZ^{2,4}, Aurea GARCÍA-VASQUEZ^{2,4},
Eduardo MEJÍA^{1,2,4}, Nixon NAKAGAWA², Lisbeth ZUTA², Jean-François RENNO^{3,4},
Carmen GARCÍA-DÁVILA^{1,2,4}

- 1 Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM), Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), Carretera Iquitos-Nauta km 4.5, San Juan Bautista, Iquitos, Perú. cdavila19@yahoo.com; cangulo@iiap.org.pe.
- 2 Programa de Investigación Para el Uso del Agua y sus Recursos (AQUAREC), Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Sede Central: Carretera Iquitos-Nauta km 4.5, San Juan Bautista, Iquitos, Perú. Sede San Martín: Jr. Belén Torres de Tello 135, Morales, Tarapoto, Perú
- 3 Institut de Recherche pour le Développement (IRD). Montpellier, France
- 4 Laboratoire Mixte International - Evolution et Domestication de l'Ichtyofaune Amazonienne (LMI-EDIA)

RESUMEN

Fue estimada la diversidad específica de la familia Loricariidae (Siluriformes, Pisces) en las 10 provincias de la región San Martín (Amazonía peruana). Para la caracterización molecular fueron obtenidas las secuencias nucleotídicas del gen mitocondrial Citocromo C Oxidasa sub unidad I (COI). El análisis filogenético de las secuencias confirmó la presencia de 16 especies, distribuidos en nueve géneros. Los valores de la riqueza observada y la riqueza esperada muestran a la provincia Picota como la de mayor riqueza (siete especies), contrariamente la provincia Rioja fue la que presentó la menor riqueza observada (una especie), seguida por la provincia El Dorado (dos especies). El análisis de componente principal (PCA) nos permitió observar la importancia que tiene la especie *Chaetostoma* sp. 1 en la provincia Rioja, así como *Ancistrus* sp. 2 para

la provincia San Martín. Además nuestros resultados muestran que la especie más abundante en la región San Martín fue *Chaetostoma* sp. 1, mientras que la de menor abundancia fueron *Aphanotorolus emarginatus* y *Chaetostoma* sp. 3. La especie de mayor distribución fue *Ancistrus* sp. 2 encontrándose en seis provincias, seguida de las especies *Chaetostoma stroumpoulos* y *Chaetostoma* sp. 1 quienes estuvieron presentes en cinco provincias diferentes de la región San Martín. Las especies *Pterygoplichthys pardalis*, *Aphanotorolus emarginatus*, *Chaetostoma* sp. 3, *Ancistrus* sp. 1 y *Farlowella smithi* estuvieron restringidas cada una a solo una provincia. Las especies comerciales conocidas como carachama parda *P. pardalis* y carachama negra *Hypostomus hemicochliodon* fueron poco frecuentes en las capturas (seis y 11 individuos respectivamente), la primera estuvo restringida solo a la provincia de Picota, en tanto que la segunda fue encontrada en las provincias de Bellavista, Huallaga y Picota. Los resultados muestran que si bien la diversidad de especies de loricáridos no es tan diversa como en la selva baja, algunas especies de esta familia están bien distribuidas y son bastante abundantes en esta región.

PALABRAS CLAVES: Secuenciamiento nucleotídico, COI, peces, código de barras genético, carachama.

APPLICATION OF THE BARCODING FOR THE ESTIMATION OF THE SPECIFIC DIVERSITY OF THE LORICARIIDAE FAMILY (PISCES: SILURIFORMES) IN THE SAN MARTÍN REGION, PERUVIAN AMAZON

ABSTRACT

The specific diversity of the Loricariidae family (Siluriformes, Pisces) was estimated in the 10 provinces of the San Martín region (Peruvian Amazon). For molecular characterization, the nucleotide sequences of the mitochondrial gene Cytochrome C Oxidase subunit I (COI) were obtained. The phylogenetic analysis of the sequences confirmed the presence of 16 species, distributed in nine genera. The values of observed wealth and expected wealth show the province of Picota as the richest (seven species), unlike the province of Rioja that presented the lowest observed wealth (one species), followed by the province of El Dorado (two species). The principal component analysis (PCA) allowed us to observe the importance of the species *Chaetostoma* sp. 1 in the province of Rioja, as well as in *Ancistrus* sp. 2 for the province of San Martín. In addition, our results show that the most abundant species in the San Martín region was *Chaetostoma* sp. 1,

while the one with the lowest abundance was *Aphanotorulus emarginatus* and *Chaetostoma* sp. 3. The species of greatest distribution was *Ancistrus* sp. 2 are found in six provinces, followed by the species *Chaetostoma stroumpoulos* and *Chaetostoma* sp. 1 who were present in five different provinces of the San Martín region. The species *Pterygoplichthys pardalis*, *Aphanotorulus emarginatus*, *Chaetostoma* sp. 3, *Ancistrus* sp. 1 and *Farlowella smithi* were restricted to a single province. The commercial species known as carachama parda *P. pardalis* and carachama negra *Hypostomus hemicochliodon* were rare in the catches (six and 11 individuals respectively), the first was limited only to the province of Picota, while the second was found in the provinces of Bellavista, Huallaga and Picota. The results show that although the diversity of loricariid species is not as diverse as in the lower jungle, some species of this family are well distributed and quite abundant in this region.

KEYWORDS: Nucleotide sequencing, COI, fish, genetic barcode, armored catfish.

INTRODUCCIÓN

La región San Martín es recorrida por la red hidrográfica de la cuenca media del río Huallaga, que abarca áreas de Selva Alta y Baja de la Amazonía peruana (Guerra *et al.*, 1999). En esta región y en el Neotrópico en general, después de los Characiformes, los Siluriformes son el grupo más importante de peces en cuanto al número de especies (Mori-Marín *et al.*, 2012). Dentro de esta gran diversidad se encuentra la familia Loricariidae, distribuida en las aguas dulces de América del Sur y parte de América Central (Boeseman, 1968). Esta familia es la más rica en especies del orden Siluriformes, contiene 115 géneros y 936 especies válidas (Froese & Pauly, 2018). En los últimos diez años se describieron 230 nuevas especies (Eschmeyer, 2017) y probablemente varios cientos de especies estén esperando ser descritas (Lujan *et al.*, 2015). Los loricáridos presentan especies de pequeño y mediano porte, con una longitud estándar menor de 20 centímetros, y una longitud total de casi un metro en algunas especies (Lujan *et al.*, 2010). Son especies muy requeridas por la acuariofilia internacional, exportados en grandes cantidades para el comercio internacional de peces ornamentales (Prang, 2007). Poseen importancia ecológica como reguladores de la dinámica de producción de nutrientes primarios en muchos ríos de Sudamérica, debido a las altas concentraciones de fosfato de calcio presentes en sus placas dérmicas (Vanni *et al.*, 2002; Knoll *et al.*, 2009).

A pesar de su increíble diversidad específica, morfología única e importancia económica y ecológica poco se sabe todavía de este grupo de peces. Hasta el momento la mayor parte de la información está relacionada a inventarios rápidos que no cubren toda la diversidad específica del grupo. Aspectos relacionados a su biología, fisiología y ecología son todavía

muy limitados (Lujan *et al.*, 2015), incluyendo aspectos de genética y caracterización molecular. Estudios genéticos han demostrado que la mayor parte de la diversificación específica de la ictiofauna neotropical ocurrió recientemente, por lo que la taxonomía e identificación molecular de las especies es un gran desafío (Pereira *et al.*, 2013). En el año 2003, Hebert *et al.* propusieron un método para identificar individuos en base a la caracterización de sectores específicos y estandarizados del genoma (barcoding), esta técnica de identificación molecular de especies tiene el potencial para una evaluación rápida y precisa en la identificación específica (Wong *et al.*, 2011). Actualmente el código de barras (barcoding) viene siendo usado exitosamente para la identificación de individuos de los diferentes taxa a nivel de especie, además tiene una vasta aplicación en diferentes campos de la biología, con probada capacidad para diferenciar especies relacionadas, estudios que van desde ciencias forenses (Dawnay *et al.*, 2007) identificación de larvas de peces (Ko *et al.*, 2013, García-Dávila *et al.*, 2015), hasta subproductos de peces y otros (García-Dávila *et al.*, 2017). En este sentido el presente trabajo tuvo como objetivo identificar molecularmente mediante el secuenciamiento del gen COI (barcoding) los especímenes de la familia Loricariidae muestreados en las 10 provincias de la región de San Martín.

MATERIALES Y MÉTODOS

COLECCIÓN DE ESPECÍMENES

Fueron colectados un total de 170 especímenes de la familia Loricariidae provenientes de las diez provincias de la región San Martín (tres puntos por provincia, Figura 1). Los especímenes capturados fueron codificados y fotodocumentados *in situ*. Para el análisis molecular, los especímenes fueron conservados en alcohol al 96% y enviados

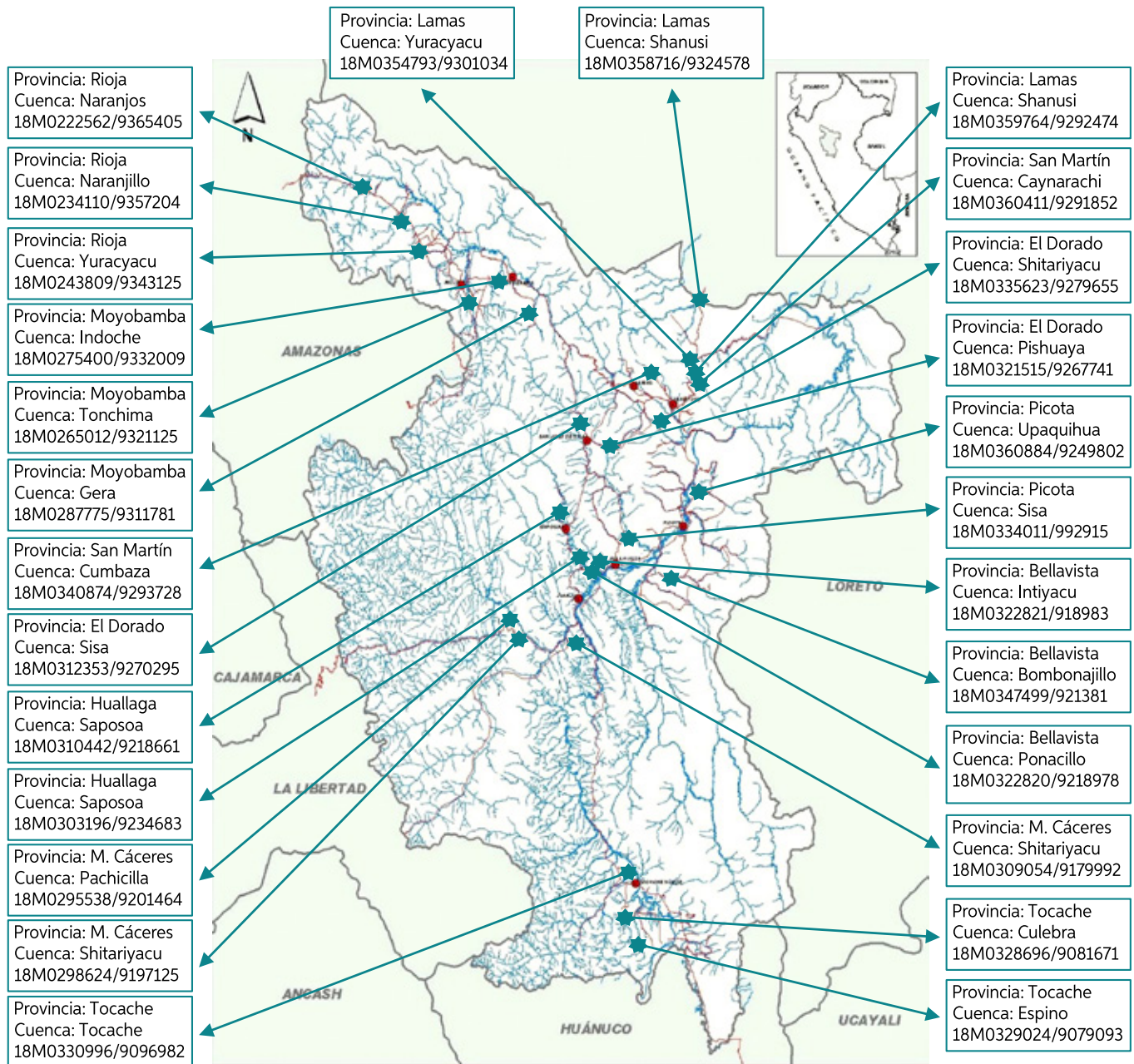


Figura 1. Mapa de la red hidrográfica de la región San Martín, indicando los puntos de colecta por provincia, con sus coordenadas geográficas.

al Laboratorio de Biología y Genética Molecular-LBGM del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana-IIAP.

EXTRACCIÓN, AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIAMIENTO NUCLEOTÍDICO DE ADN

La extracción de ADN fue realizada a partir de 100 mg de tejido muscular conservado en alcohol al 96%, mediante el protocolo CTAB (Doyle & Doyle, 1987). El gen citocromo *C* oxidasa subunidad I (COI, 576 pb) fue amplificado utilizando los primers Fish F1 5'-TCA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC-3' y Fish R1 5'-TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA-3' (Hubert *et al.*, 2008). La amplificación vía PCR fue realizada en un volumen final de 15 µl conteniendo 6,78 µl de agua ultra pura, 3 µl de Buffer 5x, 0,9 µl de MgCl₂ (25 mM), 0,6 µl de cada primer (10 µM), 1,5 µl del mix de dNTP (2 mM), 0,12 µl (5U/ul) de *Taq* DNA polimerasa (Promega) y 1,5 µl (100 ng/ µl) de ADN molde. Las condiciones de PCR fueron de 94 °C durante 2 min, 35 ciclos de 94°C durante 30 s, 54 °C durante 40 s, y 72°C durante 1 min, con una extensión final a 72 °C durante 10 minutos. Los productos de PCR del gen COI fueron secuenciados utilizando los mismos primers de la amplificación en un analizador genético 3130XL (Applied Biosystems).

ANÁLISIS DE DATOS

Las secuencias obtenidas fueron editadas usando Bioedit versión 7.2.6 (Hall, 1999) y alineadas con el programa de alineamiento múltiple ClustalW (Thompson *et al.*, 1994). Luego fueron comparadas con secuencias del GenBank. El número de sitios conservados, sitios variables, sitios informativos de parsimonia y singleton fueron obtenidos con el software MEGA 5 (Kumar *et al.*, 2008). El número de haplotipos así como la diversidad haplotípica fueron obtenidos con el software DNAsp v.5.00 (Librado & Rozas, 2009).

La determinación de la identidad genérica y específica de loricáridos fue realizada mediante tres vías: i) identificación taxonómica, ii) comparación de bases con otras secuencias depositadas en el GenBank (Sistema BLAST) y iii) establecimiento de las relaciones filogenéticas mediante un dendrograma de haplotipos, para lo cual se seleccionó primero el modelo de evolución nucleotídica de entre 24 posibles modelos evolutivos de acuerdo con los valores del Criterio de Información Akaike (AIC) (Akaike, 1973). Para este trabajo el mejor modelo evolutivo fue TN93 + G (Tamura & Nei, 1993), a partir del cual se construyó un dendrograma de los haplotipos. La identidad molecular de las especies fue determinada a través de la relación filogenética de la secuencia del haplotipo con 10 secuencias de COI de loricáridos obtenidas del GenBank (Figura 2), El dendrograma fue construido bajo el criterio de Máxima Verosimilitud (ML) (Felsenstein, 1981), tanto éste como el modelo de evolución nucleotídica fueron generados con ayuda del software MEGA 5 (Kumar *et al.*, 2008). Después de la identificación molecular de los individuos, se estimó la riqueza observada y riqueza esperada con ayuda del software Past v.3.0 y el gráfico de dicha riqueza se elaboró con SigmaPlot v.11.0. El análisis de componente principal (PCA) se obtuvo con el software Community Analysis Package (CAP) v.4.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

APLICACIÓN DEL BARCODING EN LA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES

Se logró corroborar la identidad de los nueve géneros de loricarideos encontrados en la región de San Martín, mediante la herramienta de búsqueda alineamiento básico local (BLAST) y de sus relaciones filogenéticas en un dendrograma

de máxima Verosimilitud (árbol de haplotipos). Solo cuatro de los 16 grupos genéticos mostrados en el árbol filogenético de haplotipos pudieron ser identificados a nivel específico con un porcentaje de identidad elevado (98% y 99%), estas cuatro especies fueron también corroboradas mediante análisis morfológico (Tabla 1). Estudios anteriores sobre diversidad íctica en la región San Martín estaban enfocados solo en caracteres morfológicos (Maco, 2005; Meza, 2014), lo cual llevaba muchas veces a incluir individuos de especies diferentes morfológicamente dentro de una misma especie taxonomica, debido a su gran parecido morfológico; o por el contrario, considerar individuos de una misma especie como si se trataran de diferentes especies. En nuestro trabajo no logramos identificar a todos los individuos a nivel específico, esto se debe a que los loricarideos son un grupo muy complejo, con pequeñas diferencias entre sus especies,

lo cual amerita la identificación por personal altamente especializado en el grupo, o en su defecto podría deberse a especies todavía no descritas por la ciencia y de las cuales no existe claves taxonómicas.

Dentro de los géneros *Chaetostoma* y *Ancistrus* que presentaron mayor diversidad de especies (cuatro y tres, respectivamente) solo fue posible identificar una solo especie en cada género (*C. stroumpoulos* para *Chaetostoma* y *A. bufonius*). Éstos géneros agrupan un complejo críptico de especies, muchas veces con distribución muy restringida (Eigenman & Allen, 1942), por lo que es difícil su identificación a nivel específico, incluso Salcedo (2006) menciona que las especies *C. changae*, *C. stroumpoulos* y *C. daidalmatos* son especies simpátricas que habitan en la cuenca alta del río Huallaga, esto nos hace suponer que nuestras especies de *Chaetostoma* no identificadas podrían tratarse

Tabla 1. Porcentaje de identidad y número de accesión de las secuencias del BLAST que coinciden con las del presente trabajo.

Nº	ESPECIE IDENTIFICADA TAXONÓMICAMENTE	ESPECIE SEGÚN EL BLAST	% DE IDENTIDAD BLAST	NÚMERO DE ACCESIÓN BLAST
01	<i>Peckoltia</i> sp.	<i>Peckoltia furcata</i>	96	KX087180.1
02	<i>Aphanotorulus emarginatus</i>	<i>Aphanotorulus emarginatus</i>	99	KT239019.1
03	<i>Aphanotorulus unicolor</i>	<i>Aphanotorulus emarginatus</i>	94	KT239019.1
04	<i>Pterygoplichthys pardalis</i>	<i>Pterygoplichthys pardalis</i>	99	KT239016.1
05	<i>Hypostomus cochliodon</i>	<i>Hypostomus cochliodon</i>	98	HM376401.1
06	<i>Hypostomus hemicochliodon</i>	<i>Hypostomus ancistroides</i>	96	GU701723.1
07	<i>Lasiancistrus heteracanthus</i>	<i>Lasiancistrus schomburgkii</i>	97	KP772579.1
08	<i>Ancistrus bufonius</i>	<i>Ancistrus</i> sp. (1)	95	KP960569.1
09	<i>Ancistrus</i> sp. 1	<i>Ancistrus</i> sp. (2)	94	KP960569.1
10	<i>Ancistrus</i> sp. 2	<i>Ancistrus</i> sp. (3)	95	KP960569.1
11	<i>Chaetostoma</i> sp. 1	<i>Chaetostoma</i> sp. (1)	89	EU359410.1
12	<i>Chaetostoma</i> sp. 2	<i>Chaetostoma</i> sp. (2)	89	EU359410.1
13	<i>Chaetostoma</i> sp. 3	<i>Chaetostoma</i> sp. (3)	93	EU359410.1
14	<i>Chaetostoma stroumpoulos</i>	<i>Chaetostoma</i> sp. (4)	96	EU359410.1
15	<i>Farlowella smithi</i>	<i>Farlowella smithi</i>	98	KT952444.1
16	<i>Loricaria</i> sp.	<i>Loricaria cataphracta</i>	95	KX087174.1

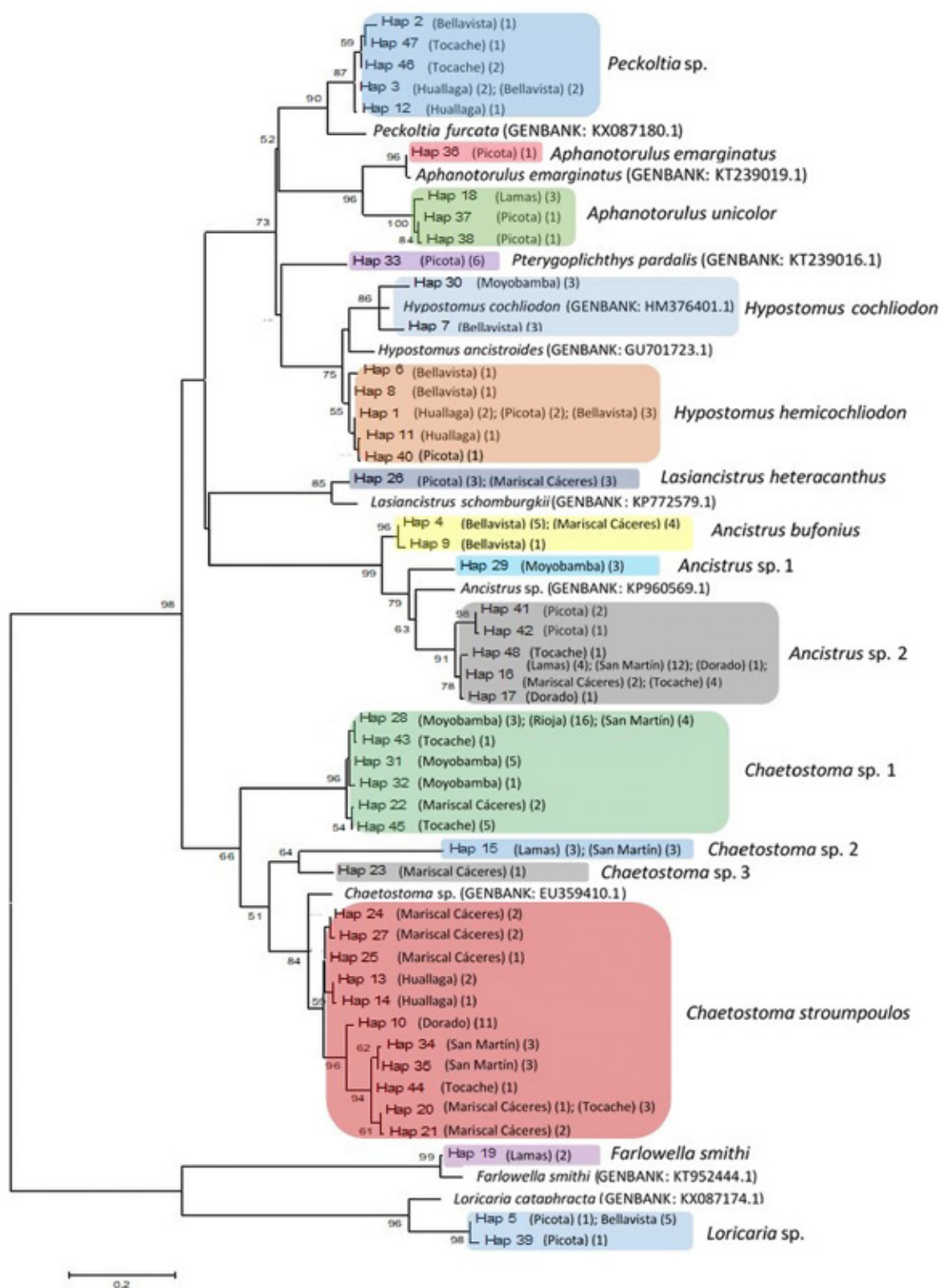


Figura 2. Árbol consenso de Máxima Verosimilitud de Haplotipos de Loricáridos de la región San Martín, modelo evolutivo TN93 + G. Entre los paréntesis la provincia y el número de individuos por provincia (cuadros a color). En los nodos, valores de bootstrap (500 repeticiones) mayores a 50. Además se indica el número de accesión de las secuencias obtenidas del Genbank.

de las mencionadas por Salcedo, 2006. García-Dávila *et al.* (2015) y Moreira *et al.* (2017) en sus investigaciones también obtuvieron secuencias del género *Ancistrus*, no logrando identificarlos a nivel de especie.

El BLAST logró identificar a las especies encontradas del género *Hypostomus* como *H. cochliodon* e *H. ancistroides*, este último fue identificado taxonómicamente en base a caracteres morfológicos como *H. hemicochliodon*, las diferencias entre la identificación del BLAST y morfológica en la determinación de la especie se debe a que en el GenBank no se encuentra depositada ninguna secuencia de la especie *H. hemicochliodon* con el gen mitocondrial Citocromo C Oxidasa sub unidad I (COI), es por ello que al momento de realizar la comparación de bases nucleotídicas, el BLAST identifica a nuestro individuo con la secuencia disponible más próxima, en este caso con la especie *H. ancistroides*. Similar caso se pudo observar entre las especies *Aphanotorulus emarginatus* (según el BLAST) y *Aphanotorulus unicolor* (identificación taxonómica), *Lasiancistrus schomburgkii* (BLAST) y *Lasiancistrus heteracanthus* (identificación taxonómica) (Tabla 1).

DIVERSIDAD ESPECÍFICA DE LORICARIIDAE A NIVEL DE LA REGIÓN SAN MARTÍN

Nuestros resultados muestran (Figura 2) en la región de San Martín la presencia de nueve de los 36 géneros reportados para la Amazonia peruana (Ortega *et al.*, 2012). En la figura 2 también podemos observar nueve grupos genéticos identificados a nivel de especie y siete que solo pudimos identificar a nivel de género. Los géneros más diversos fueron *Chaetostoma* y *Ancistrus* (4 y 3 especies, respectivamente), en tanto que los menos diversos fueron *Peckoltia*, *Loricaria* y *Farlowella* (con una especie cada una de ellas). La diversidad específica encontrada dentro de estos géneros es concordante a su naturaleza, los

géneros con mayor número de taxa son aquellas cuyas especies están mejor adaptadas a habitar cuerpos de agua más torrentosos y en mayor altitud, como es el caso del género *Chaetostoma* que agrupa especies que se distribuyen preferencialmente en cuerpos de agua de selva alta. Al igual que las especies del género *Ancistrus*, como *A. bufonius* que es exclusivo de tierras altas, esto nos hace suponer que las otras dos restantes pudieran tener el mismo comportamiento, aunque algunas especies dentro de este género se distribuyen también en selva baja (Sánchez *et al.*, 2012). Los géneros *Loricaria* y *Farlowella* fueron colectados en cuerpos de agua de tierras bajas colindante a la región Loreto, región en donde estos géneros son más diversos. En el caso de la especie del género *Peckoltia*, según la lista anotada de Ortega *et al.* (2012) hay cinco especies reportadas para el Perú, todas ellas registradas en selva baja, lo que nos hace suponer que nuestro registro se trataría de una especie distinta, porque ella habita cuerpos de agua de tierras altas en la región de San Martín.

Ancistrus sp. 2 fue la especie que presentó la mayor distribución geográfica, encontrándose en seis provincias de las 10 provincias analizadas (El Dorado, Lamas, Mariscal Cáceres, Picota, San Martín y Tocache), seguida por *C. stroumpoulos* y *Chaetostoma* sp. 1 (presentes en cinco de las diez provincias), estas dos últimas especies poseen los mayores porcentajes de representatividad a nivel regional (18.9% y 21.8%, respectivamente) frente a un 16.5% que presenta *Ancistrus* sp2 (Tabla 2). Si bien *C. stroumpoulos* estuvo presente en las provincias de Huallaga, Mariscal Cáceres, San Martín, Tocache y El Dorado, pero en esta última fue más numerosa (34% del total de individuos capturados de esta especie). En cambio la especie *Chaetostoma* sp. 1 fue dominante en las colectas de la provincia Rioja (43% del total de individuos capturados de esta especie), pero fue registrado también en las provincias Mariscal

Tabla 2. Porcentaje de representatividad por especie en la región San Martín

GÉNERO	ESPECIE	Nro. de individuos por especie	% de representatividad a nivel regional
<i>Peckoltia</i>	<i>Peckoltia</i> sp.	9	5.3
<i>Aphanotorulus</i>	<i>A. emarginatus</i>	1	0.6
	<i>A. unicolor</i>	5	2.9
<i>Pterygoplichthys</i>	<i>P. pardalis</i>	6	3.5
<i>Hypostomus</i>	<i>H. cochliodon</i>	6	3.5
	<i>H. hemicochliodon</i>	11	6.5
<i>Lasiancistrus</i>	<i>L. heteracanthus</i>	6	3.5
<i>Ancistrus</i>	<i>A. bufonius</i>	10	5.9
	<i>Ancistrus</i> sp. 1	3	1.8
	<i>Ancistrus</i> sp. 2	28	16.5
<i>Chaetostoma</i>	<i>Chaetostoma</i> sp. 1	37	21.8
	<i>Chaetostoma</i> sp. 2	6	3.5
	<i>Chaetostoma</i> sp. 3	1	0.6
	<i>C. stroumpoulos</i>	32	18.9
<i>Farlowella</i>	<i>F. smithi</i>	2	1.2
<i>Loricaria</i>	<i>Loricaria</i> sp.	7	4.1
TOTAL DE INDIVIDUOS		170	100

Tabla 3. Diversidad y número de especies de loricáridos identificados por provincia

GÉNERO	ESPECIE	PROVINCIA									
		Bellavista	El Dorado	Huallaga	Lamas	Mariscal Cáceres	Moyobamba	Picota	Rioja	San Martín	Tocache
<i>Peckoltia</i>	<i>Peckoltia</i> sp.	3		3							3
<i>Aphanotorulus</i>	<i>A. emarginatus</i>							1			
	<i>A. unicolor</i>				3			2			
<i>Pterygoplichthys</i>	<i>P. pardalis</i>							6			
<i>Hypostomus</i>	<i>H. cochliodon</i>	3					3				
	<i>H. hemicochliodon</i>	5		3				3			
<i>Lasiancistrus</i>	<i>L. heteracanthus</i>					3		3			
<i>Ancistrus</i>	<i>A. bufonius</i>	6				4					
	<i>Ancistrus</i> sp. 1						3				
	<i>Ancistrus</i> sp. 2		2		4	2		3		12	5
<i>Chaetostoma</i>	<i>Chaetostoma</i> sp. 1					2	9		16	4	6
	<i>Chaetostoma</i> sp. 2				3					3	
	<i>Chaetostoma</i> sp. 3					1					
	<i>C. stroumpoulos</i>		11	3		8				6	4
<i>Farlowella</i>	<i>F. smithi</i>				2						
<i>Loricaria</i>	<i>Loricaria</i> sp.	5						2			
TOTAL DE INDIVIDUOS		22	13	9	12	20	15	20	16	25	18

Los números indican la cantidad de individuos secuenciados

Cáceres, Moyobamba, San Martín y Tocache. Por el contrario las especies *Aphanotorulus emarginatus*, *Chaetostoma* sp. 3, *Ancistrus* sp. 1, *Farlowella smithi* y *Pterygoplichthys pardalis*, estuvieron restringidas cada una de ellas a solo una provincia (Tabla 3). La última especie conocida localmente como carachama negra, fue poco abundante en toda la región San Martín (4% del total de individuos capturados en la región), ver Tabla 2. Al contrario la especie *Hypostomus hemicochliodon* (especie comercial conocida como carachama parda), mostró una distribución geográfica más amplia encontrándose en las provincias Bellavista, Huallaga y Picota (Tabla 2), esta especie tiene igual importancia que *P. pardalis* carachama negra, para el consumo humano.

DIVERSIDAD ESPECÍFICA POR PROVINCIA

BELLAVISTA: Los 22 individuos secuenciados mostraron la presencia de cinco especies en esta provincia. Mediante secuencia nucleotídica solo pudo ser identificado a nivel de especie *Hypostomus cochliodon* (tres individuos, BLAST con 98% de afinidad); a nivel de genero ocho individuos: tres como *Peckoltia* sp. (BLAST con 96% de afinidad) y cinco como *Loricaria* sp. (BLAST con 95% de afinidad). Los individuos restantes fueron identificados como *H. hemicochliodon* y seis como *Ancistrus bufonius* mediante la taxonomía morfológica (Tabla 1).

EL DORADO: Los 13 individuos secuenciados pertenecieron solo a dos especies. Mediante el BLAST identificamos a nivel de genero a *Chaetostoma* sp. y *Ancistrus* sp.; Sin embargo mediante la taxonomía se pudo determinar que los individuos del género *Chaetostoma* pertenecen a la especie *C. stroumpoulos*. Al adicionar las secuencias depositadas en el GenBank a nuestro

dendrograma de haplotipos, observamos que nuestros individuos son distantes a los del GenBank (solo un 95% de afinidad), quedando los individuos del género *Ancistrus* como *Ancistrus* sp. 2 (Tabla 1).

HUALLAGA: Secuenciamos nueve individuos, el BLAST no logró identificar a ningún individuo a nivel específico, pero mediante la identificación taxonómica se determinó que tres individuos pertenecen a la especie *H. hemicochliodon*, tres individuos son de la especie *Peckoltia* sp. y tres de la especie *C. stroumpoulos*, todo esto se confirmó al incorporar las secuencias depositadas en el GenBank (BLAST) a nuestro árbol de haplotipos, donde se observó claramente que nuestros individuos son especies diferentes a las reportadas en el Genbank (Figura 2).

LAMAS: Secuenciamos un total de 12 individuos, el BLAST solo identificó a las especie *Farlowella smithi*, con un porcentaje de similaridad de 98% (Tabla 1) y a los géneros Mediante la taxonomía se logró identificar a la especie *Aphanotorulus unicolor*, además confirmó lo identificado mediante BLAST con respecto a los dos individuos de la especie *Farlowella smithi*. Además el BLAST identificó a los géneros *Chaetostoma* y *Ancistrus*, observamos que tres de nuestros individuos secuenciados fueron identificados como *Chaetostoma* sp. 2 y cuatro como *Ancistrus* sp. 2 (Tabla 3).

MARISCAL CÁCERES: En total se obtuvieron 20 individuos secuenciados. El BLAST no logró identificar a nivel específico a ningún individuo, pero si a nivel de género. Con la identificación taxonómica se logró identificar a las especies *L. heteracanthus* (tres individuos), ocho individuos como la especie *C. stroumpoulos* y cuatro individuos como *A. bufonius*. Al adicionar las secuencias de Genbank a nuestro árbol de

haplotipos observamos que nuestros individuos de *Chaetostoma* y *Ancistrus* son distantes a éstas secuencias, quedando dos individuos como *Chaetostoma* sp. 1, uno como *Chaetostoma* sp. 3 y dos como *Ancistrus* sp. 2.

MOYOBAMBA: En total se secuenciaron 15 individuos pertenecientes a tres especies, Los géneros identificados mediante el BLAST fueron *Chaetostoma*, *Ancistrus*, e *Hypostomus*. Sin embargo, nuevamente el BLAST no logró determinar las especies de los nueve individuos de *Chaetostoma*, quedando como *Chaetostoma* sp. 1, ni los tres individuos de *Ancistrus*, quedando como *Ancistrus* sp. 1; pero si determinó a los tres individuos del género *Hypostomus* como la especie *H. cochliodon* (con un 98 % de porcentaje de identidad, Tabla 1). Con la identificación taxonómica los géneros *Chaetostoma* y *Ancistrus* se mantuvieron como sp. 1.

PICOTA: Se obtuvo las secuencias de 20 individuos. Fue la provincia con mayor diversidad específica. Encontramos 6 géneros: *Hypostomus*, *Pterygoplichthys*, *Aphanotorulus*, *Lasiancistrus*, *Ancistrus* y *Loricaria*, distribuidos en siete especies. El BLAST asignó un porcentaje de identidad específica confiable solo a los individuos de los géneros *Pterygoplichthys* y *Aphanotorulus*, identificándolos como las especies *P. pardalis* (99 % de porcentaje de identidad) y *A. emarginatus* (99 % de porcentaje de identidad, solo para un individuo), para el resto de individuos los porcentajes de identidad asignados por el BLAST no fueron confiables (menores a 98 %), identifican correctamente el género pero no la especie (Tabla 1). Taxonómicamente si fue posible identificar a nivel de especie a los géneros *Hypostomus*, *Aphanotorulus*, *Lasiancistrus*, quedando como *H. hemicochliodon*, *A. unicolor* y *L. heteracanthus*, respectivamente. Los tres individuos del género *Ancistrus* y los dos individuos del género *Loricaria*

no pudieron ser identificados a nivel específico, quedando como *Ancistrus* sp. 2 y *Loricaria* sp. Todo lo descrito se evidencia al observar el árbol de haplotipos (Figura 2).

RIOJA: Esta fue la provincia menos diversa en el presente estudio, se encontró únicamente al género *Chaetostoma*, el BLAST no pudo determinar la especie de los 16 individuos secuenciados para esta provincia, quedando como *Chaetostoma* sp. 1. (Tabla 1).

SAN MARTÍN: Se obtuvieron 25 secuencias nucleotídicas pertenecientes a 2 géneros: *Chaetostoma* y *Ancistrus*. El BLAST al igual que en la provincia Rioja, no logró determinar la especie de los 13 individuos del género *Chaetostoma*, quedando cuatro individuos como *Chaetostoma* sp. 1, tres como *Chaetostoma* sp. 2, sin embargo mediante la identificación taxonómica se logró identificar a los seis individuos restantes como la especie *C. stroumpoulos*. Asimismo el BLAST tampoco logró determinar a nivel específico los 12 individuos del género *Ancistrus* (Tabla 1), quedando estos como *Ancistrus* sp. 2.

TOCACHE: Secuenciamos 18 individuos, los cuales pertenecieron a 3 especies distribuidas en 3 géneros. Los géneros identificados mediante el BLAST fueron *Ancistrus*, *Chaetostoma* y *Peckoltia* (cinco, diez y tres individuos, respectivamente). Sin embargo el BLAST no logró identificar a nivel específico a ningún individuo de esta provincia. Con ayuda de la identificación taxonómica se logró identificar a cuatro individuos del género *Chaetostoma* como la especie *C. stroumpoulos*, los seis restantes individuos de este género quedaron como *Chaetostoma* sp. 1. Al adicionar a nuestro árbol de haplotipos (dendrograma) secuencias obtenidas del GenBank, se observó que nuestros tres individuos del género *Peckoltia* son diferentes a la especie obtenida del GenBank (*Peckoltia*

furcata), quedando nuestros especímenes como *Peckoltia* sp.; similar caso se observó con nuestros cinco individuos del género *Ancistrus*, los cuales no pudieron ser identificados mediante el BLAST ni taxonómicamente, quedando como *Ancistrus* sp. 2 (Tabla 1).

RIQUEZA OBSERVADA VERSUS RIQUEZA ESPERADA

Los resultados muestran claramente que la provincia Picota presentó la mayor riqueza de especies (siete especies), seguida de cerca por las provincias Mariscal Cáceres y Bellavista (seis y cinco, respectivamente). Contrariamente la provincia Rioja fue la que presentó la menor riqueza observada (una especie), seguida por la provincia El Dorado, con dos especies. A pesar que la provincia Rioja presentó menor riqueza de especies, al mismo tiempo fue la provincia que

evidenció la mayor dominancia de una especie (*Chaetostoma* sp. 1). Incluso *Chaetostoma* sp. 1 fue la especie más representativa porcentualmente en toda la región San Martín. El número de especies observadas al ser contrastada con el número de especies esperadas, nos mostró que ambas riquezas (observada y esperada) coinciden en cuanto a número de especies (Figura 3). Esto quiere decir que nuestras capturas durante todos los muestreos abarcaron con prácticamente todas las especies presentes en estas zonas geográficas. Estas igualdades entre la riqueza observada y la esperada nos dan a entender que los muestreos realizados para el presente trabajo son válidos, debido a que la riqueza observada supera más del 50% de la riqueza esperada, esto se puede apreciar en todas las provincias. Sin embargo, al tratarse de una zona con extensas áreas de bosques y ríos de corrientes rápidas

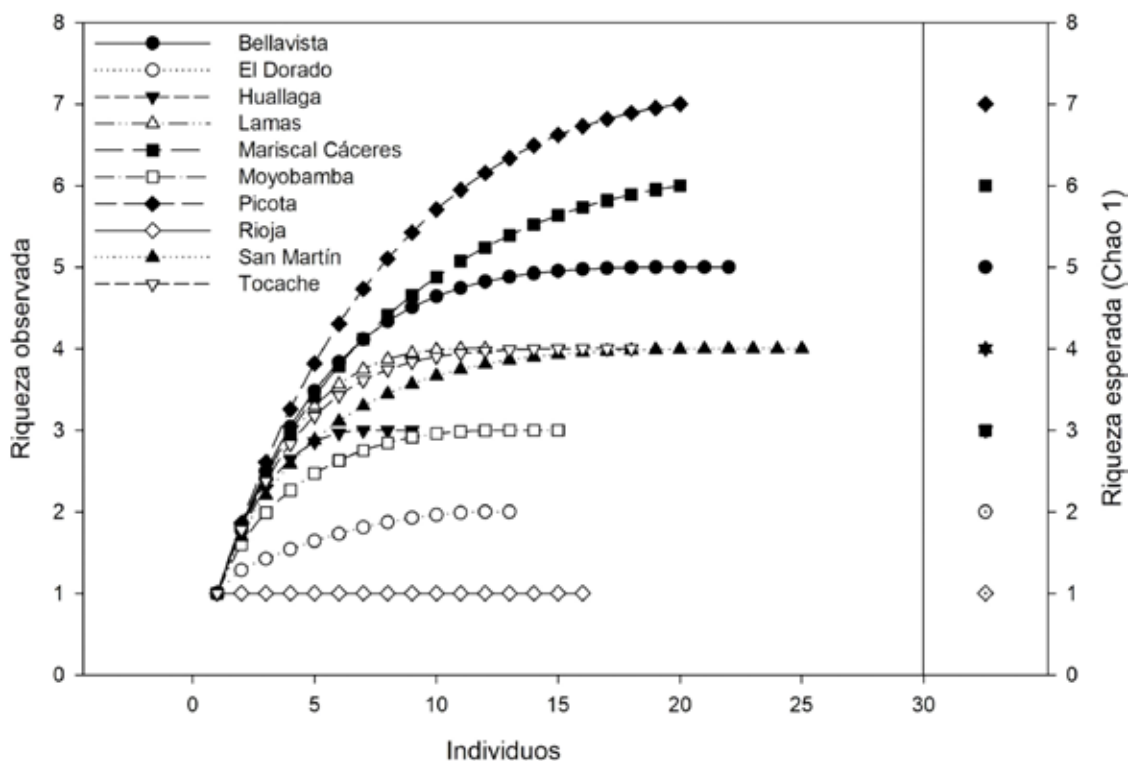


Figura 3. Gráfico de la riqueza observada y la riqueza esperada en las 10 provincias de la región San Martín. Eje horizontal indica número de individuos y los ejes verticales indican número de especies, izquierda especies encontradas y derecha especies esperadas.

que en algunos casos penetran el bosque, lo cual contribuye a la disponibilidad de alimento y a la formación de un sinfín de hábitats para los peces, es muy probable que especies de menor abundancia o distribución geográfica estén pasando desapercibidas.

DOMINANCIA DE LAS ESPECIES POR PROVINCIA

El análisis de componente principal - PCA (Figura 4) muestra que las provincias presentan una o dos especies más representativas o dominantes en cada una de ellas. También se puede observar la dominancia de la especie *Chaetostoma* sp. 1 en las provincias Moyobamba y Rioja, siendo que en esta última provincia era la única especie que se capturo en esa área. Similar situación se observa en la provincia San Martín donde *Ancistrus* sp. 2 fue la especie dominante, mientras que *C.*

stroumpoulos lo fue para las provincias Mariscal Cáceres y El Dorado (Figura 4). Solo en la provincia Bellavista no se observó una clara dominancia de alguna de las especies (la abundancia de especies en esta provincia osciló entre 13 a 23%). Mientras que la provincia Picota siendo la más diversa en cuanto a especies, no presentó una dominancia por alguna de las especies encontradas en ella y a nivel regional las especies encontradas en Picota no son representativas. El análisis de componente principal (PCA) obtenido es explicativo, ya que la suma de los porcentajes de los ejes horizontal y vertical sobrepasan el 50% (obtuvimos 66.73%).

APRECIACIÓN GLOBAL

La eficiencia de los tres métodos empleados en la determinación de la especie (i) identificación taxonómica, ii) comparación de bases con otras secuencias depositadas en el GenBank (Sistema

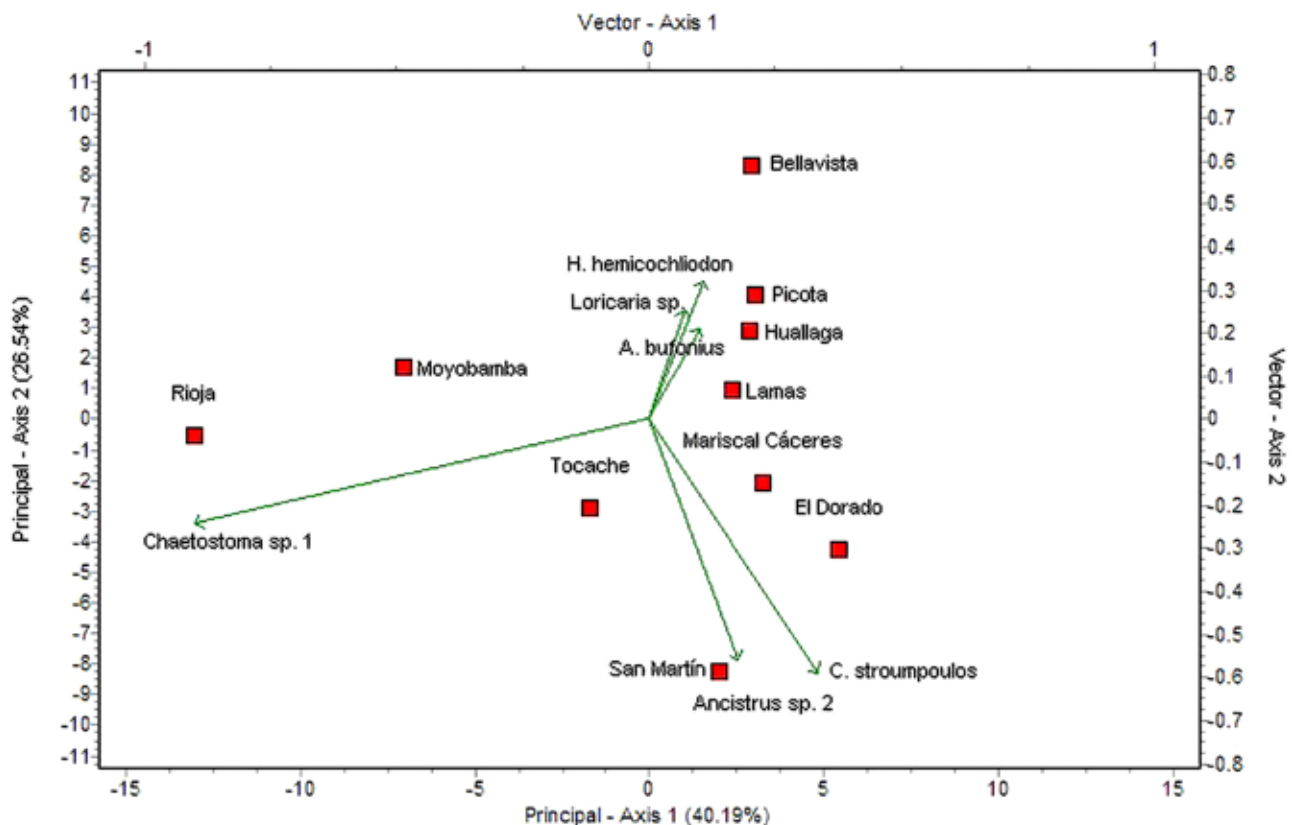


Figura 4. Análisis de componente principal (PCA) de las 10 provincias de la región San Martín.

BLAST) y iii) elaboración de un dendograma de haplotipos) nos permite afirmar que son complementarios entre ellos. Los casos donde la identificación mediante el BLAST y la taxonomía no coincidían se deben principalmente a la falta de secuencias COI en el GenBank o a una mala identificación de la especie a partir de la secuencia del espécimen depositado en este banco de genes, pero la visualización de las relaciones filogenéticas de especies en el dendograma ayudó a una mejor comprensión de estos casos.

Todos los géneros de loricáridos encontrados en la región San Martín son comercializadas en el mercado ornamental, pero dentro de estos existen dos especies que tiene potencial en la región dentro del mercado de consumo humano (carachama negra *Pterygoplichthys pardalis* y carachama parda *Hypostomus hemicochliodon*), pero estas especies presentan una reducida distribución en la región (Picota, Bellavista y Huallaga) y sus densidades son bajas en estos hábitats por lo que los podemos catalogarlas como especies no representativas en la región. Sin embargo su demanda en el mercado de consumo local es alto, por lo que se requiere urgentemente el desarrollo de un paquete tecnológico de producción en cautiverio. El IIAP a través de su filial San Martín, viene realizando trabajos experimentales en la reproducción en cautiverio de estas especies.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

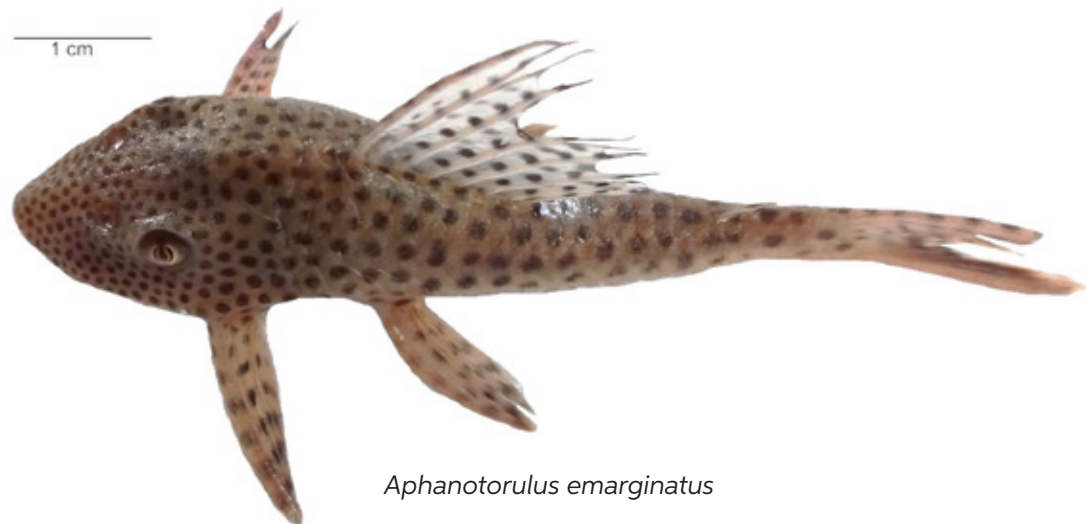
- Akaike, H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. *In: Petrov, B.N., Csaki, F. (Eds.), Proceedings of the Second International Symposium on Information Theory, Akadémia Kiado, Budapest, 267-281.*
- Boeseman, M. 1968. The genus *Hypostomus* Lacepede, 1803, and its Surinam representatives (Siluriformes, Loricariidae) *Zoologische. Verhandelingen, Leiden* 99: 1-89.
- Dawnay, N.R.; Ogden, R.; McEwing, R.; Carvalho, G.R.; Thorpe, R.S. 2007. Validation of the barcoding gene COI for use in forensic genetic species identification. *Forensic Science International*, 173: 1-6.
- Doyle, J.J.; Doyle, J.L. 1987. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Eigenmann, C.H.; Allen, W.R. 1942. Fishes of Western South America: I, The Intercordilleran and Amazonian Lowlands of Peru; II, The High Pampas of Peru, Bolivia, and Northern Chile; with a revision of the Peruvian Gymnotidae and of the Genus *Orestias*. The University of Kentucky, Lexington, Kentucky.
- Eschmeyer, W.N. (Ed.), 2017. Catalog of Fishes: Family, Subfamily References. <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp#Loricariidae>. Online version Update 31 August 2017. Acceso: 10/09/2017.
- Felsenstein, J.F. 1981. Evolutionary tree from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17: 368-376.
- Froese, R.; D. Pauly. Editors. 2018. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org. Acceso: 14/12/2018.
- García-Dávila, C.R.; Castro-Ruiz, D.; Renno, J.F.; Chota-Macuyama, W.; Carvajal-Vallejos, F.M.; Sánchez, H.; Angulo, C.; Nolorbe, C.; Alvarado, J.; Estivals, G.; Núñez-Rodríguez, J.; Duponchelle, F. 2015. Using barcoding of larvae for investigating the breeding seasons of pimelodid catfishes from the Marañon, Napo and Ucayali rivers in the Peruvian Amazon. *Journal Applied Ichthyology*, 31: 40 - 51.
- García-Dávila, C.R.; Flores, M.; Pinedo, L.; Loyola, R.; Castro-Ruiz, D.; Angulo, C.; Mejía, E.; Sánchez, H.; García, A.; Chota, W.; Estivals, G.; Panduro, H.; Nolorbe, C.; Chuquipiondo, C.; Duponchelle, F.; Renno, J.F. 2017. Aplicación

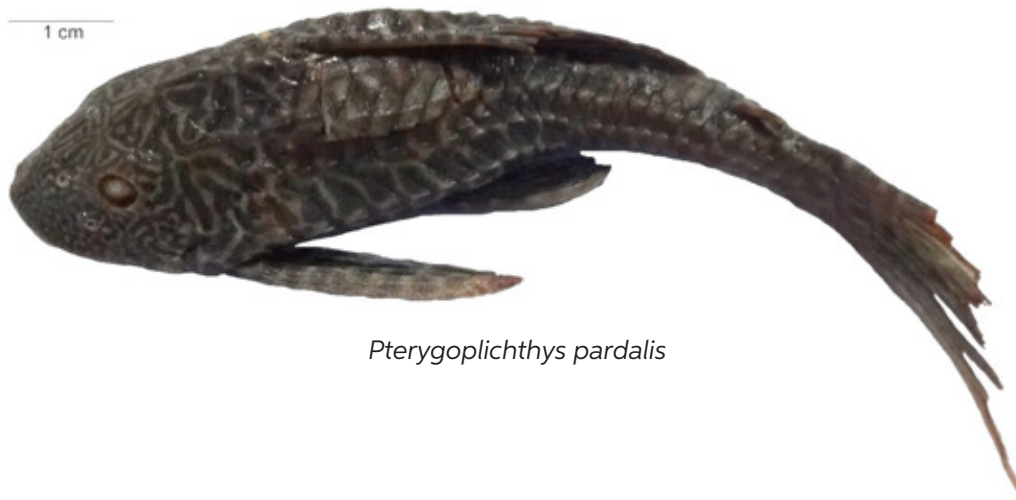
- del barcoding al manejo y conservación de peces y sus subproductos en la Amazonía peruana. *Folia Amazónica*, 26(2): 195–204.
- Guerra, H.; Ortega, H.; Maco, J.; Limachi, L.; Sánchez, H.; Ismiño, R.; García, A. 1999. *Informe del Estudio: Evaluación del impacto de la introducción de especies exóticas en la cuenca del río Huallaga*. Convenio Ministerio de Pesquería. Instituto de investigaciones de la Amazonía Peruana, Iquitos. 74pp.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95–98.
- Hebert, P.D.N.; Cywinska, A.; Ball, S.L.; De Waard, J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings Biological Sciences*, 270: 313-321.
- Hubert, N.; Torricco, J.P.; Bonhomme, F.; Renno, J.F. 2008. Species polyphyly and mtDNA introgression among three *Serrasalmus* sister-species. *Molecular Phylogenetic Evolution*, 46: 375-381.
- Ko, H.L.; Wang, Y.T.; Chiu, T.S.; Lee, M.A.; Leu, M.Y.; Chang, K.Z. 2013. Evaluating the accuracy of morphological identification of larval fishes by applying DNA barcoding. *Plos One*, 8: 1: e53451
- Knoll, L.B.; McIntyre, P.B.; Vanni, M.J.; Flecker, A.S. 2009. Feedbacks of consumer nutrient recycling on producer biomass and stoichiometry: separating direct and indirect effects. *Oikos* 118, 1732-1742.
- Kumar, S.; Dudley, J.; Nei, M.; Tamura, K. 2008. MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in Bioinformatics*, 9: 299-306.
- Librado, P.; Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25: 1451-452.
- Lujan, N.K.; Armbruster, J.W.; Lovejoy, N.R.; López-Fernández, H. 2015. Multilocus molecular phylogeny of the suckermouth armored catfishes (Siluriformes: Loricariidae) with a focus on subfamily Hypostominae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 82: 269–288.
- Lujan, N.K.; Hidalgo, M.; Stewart, D.J. 2010. Revision of Panaque (*Panaque*), with descriptions of three new species from the Amazon Basin (Siluriformes, Loricariidae). *Copeia*, 4: 676-704.
- Maco, J. 2005. Zonificación Ecológica Económica de la Región San Martín. Hidrobiología. Gobierno Regional de San Martín. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. Perú. 50 pp.
- Meza, S.V. 2014. *Ictiofauna y estado de conservación de los hábitats acuáticos entre Aucayacu y Tocache: Cuenca del río Huallaga (Huánuco-San Martín)*. Tesis de pre-grado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Lima, Perú. 141pp.
- Moreira, D.A.; Buckup, P.A.; Furtado, C.; Val, A.L.; Schama, R.; Parente, T.E. 2017. Reducing the information gap on Loricarioidei (Siluriformes) mitochondrial genomics. *BMC Genomics*. 18:345.
- Mori-Marín, J.; Renno, J.F.; Carvajal-Vallejos, F.; Alcántara-Bocanegra, F.; Duponchelle, F.; García-Dávila C.R. 2012. Estudio comparativo de la variabilidad genética del zúngaro tigrinus - *Brachyplatystoma tigrinum* (Britski, 1981) y dos especies relacionadas de la familia Pimelodidae. *Folia Amazónica*, 21:87-95.
- Ortega, H.; Hidalgo, M.; Trevejo, G.; Correa, E.; Cortijo, A.M.; Meza, V.; Espino, J. 2012. Lista anotada de los peces de aguas continentales del Perú: Estado actual del conocimiento, distribución, usos y aspectos de conservación. Ministerio del Ambiente, Dirección General

- de Diversidad Biológica-Museo de Historia Natural, UNMSM. 56pp.
- Pereira, L.; Hanner, R.; Foresti, F.; Oliveira, C. 2013. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna?. *BMC Genetics*, 14.
- Prang, G. 2007. An industry analysis of the freshwater ornamental fishery with particular reference to the supply of Brazilian freshwater ornamentals to the UK market. *Uakari*, 3, 7-51.
- Sánchez, H.; Nolorbe, C.; García, C.; Ismiño, R.; Chota, W.; Tello, S.; García-Dávila, C. 2013. Diversidad y Abundancia de peces en los ríos Arabela y Curaray (Cuenca del río Napo) en época de creciente y vaciante del 2012, Amazonia peruana. *Folia Amazónica*, 22(1-2): 43-57.
- Salcedo, N. 2006. Two new species of Chaetostoma (Siluriformes: Loricariidae) from the Huallaga River in central Peru. *Ichthyol. Explor. Freshwaters*, 17(3):207-220.
- Tamura, K.; Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10:512-526.
- Thompson, J.D.; Higgins, D.G.; Gibson, T.J. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight choice. *Nucleic Acids Research*, 22:4673-4680.
- Vanni, M.J.; Flecker, A.; Hood, J.M.; Headworth, J.L. 2002. Stoichiometry of nutrient recycling by vertebrates in a tropical stream: linking species identity and ecosystem processes. *Ecology Letters*, 5: 285-293.
- Wong, L.L.; Peatman, E.; Lu, J.; Kucuktas, H.; He, S.; Zhou, C.; Na-nakorn, U.; Liu, Z. 2011. DNA Barcoding of Catfish: Species Authentication and Phylogenetic Assessment. *Plos one* 6(3):e17812.

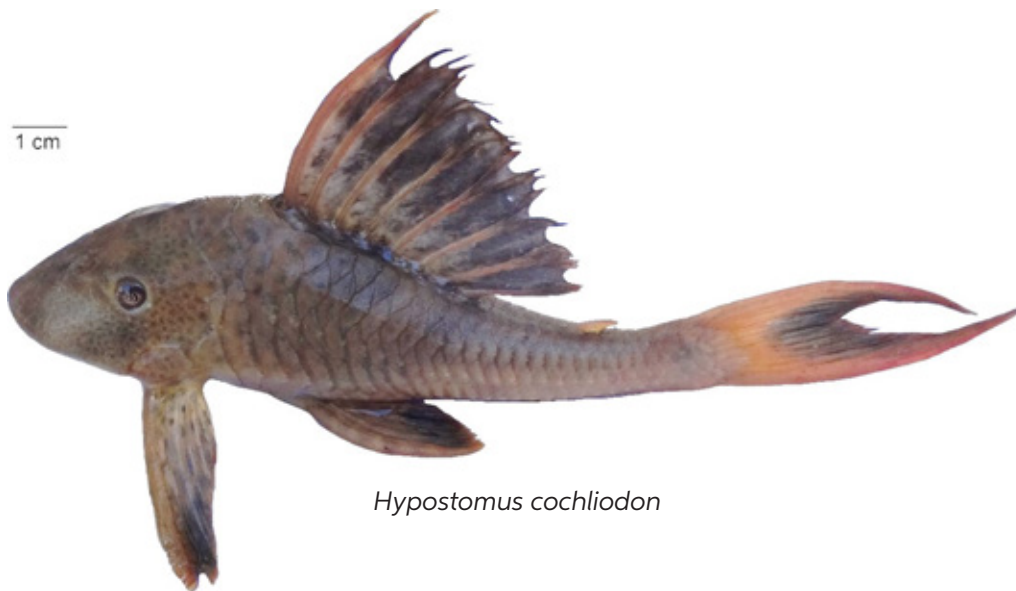
Recibido: 22 de mayo de 2018 **Aceptado para publicación:** 11 de julio de 2018

ANEXO: FOTOS DE LAS ESPECIES DE LORICÁRIDOS ENCONTRADAS





Pterygoplichthys pardalis



Hypostomus cochliodon



Hypostomus hemicochliodon





