

Fecha de presentación del Informe: Día Mes Año

1. Datos generales del Proyecto

Código del proyecto: 71126			
Título del proyecto: Diversidad genética de peces del Santuario de Fauna y Flora Malpelo, con énfasis en las especies endémicas			
Facultad o Instituto Académico: Ciencias Naturales y Exactas			
Departamento o Escuela: Biología			
Grupo (s) de investigación: Ecología de Arrecifes Coralinos; Sistemática, Evolución y Biogeografía Animal (SEyBA)			
Entidades: Universidad del Valle, Parque Nacionales Naturales			
Palabras claves:			
Investigadores ¹	Nombre	Tiempo asignado	Tiempo dedicado
Investigador Principal	Jose Tavera	5 horas semanales	5 horas semanales
Coinvestigadores	Stephania Rojas Vélez	20 horas semanales	20 horas semanales
Otros participantes			

2. Resumen ejecutivo:

Se espera que describa el proyecto, planteamiento del problema, objetivos, metodología, principales resultados obtenidos y las conclusiones. La extensión debe ser de máximo de 500 palabras (en español y en inglés).

¹ Todas las personas relacionadas en el informe y que participen en el proyecto deben haber suscrito el acta de propiedad intelectual de acuerdo con los formatos establecidos.

Las especies endémicas son especialmente vulnerables a las perturbaciones y se sitúan en mayor riesgo de extirpación local que las especies con distribuciones más extendidas. Esto es debido a factores (evolutivos, oceanográficos, biológicos, ecológicos y genéticos) que operan a diferentes escalas espacio/temporales, convirtiendo a estas especies en una oportunidad única para estudiar y comprender el origen o mantenimiento de la vida en el planeta. El presente trabajo analizó el estado de la diversidad genética de los peces endémicos (*Axoclinus rubinoffi*, *Acanthemblemaria stephensi*, *Halichoeres malpelo* y *Chriolepis lepidota*) del Santuario de Fauna y Flora Isla Malpelo. Se colectaron alrededor de la isla, un total de 30 individuos por cada una de las especies, para realizar la amplificación de la región mitocondrial control (D-loop). Posteriormente, se calculó el número de haplotipos (H_n), la diversidad haplotípica (H_d) y la diversidad nucleotídica (π). Se realizaron redes de haplotipos y se compararon los indicadores de diversidad genética con especies estrechamente relacionadas. La especie que presentó mayor diversidad haplotípica fue *H. malpelo*, seguida por *A. rubinoffi*, *A. stephensi* y en último lugar, *C. lepidota*. Todas las especies endémicas presentaron valores de diversidad haplotípica y nucleotídica menores con respecto a especies cercanas que han sido evaluadas en otras investigaciones, usando la región control mitocondrial. Esto puede deberse a tamaños efectivos reducidos, o a rasgos en la historia de vida que limitan la capacidad de dispersión, dos factores que influyen considerablemente en los niveles de diversidad genética de las especies.

3. Síntesis del proyecto:

En una extensión máxima de 5 páginas, se debe mostrar el cumplimiento de los objetivos del proyecto y debe incluir:

Tema

Objetivos: general y específicos

Objetivo general

1. Analizar y comparar indicadores de diversidad genética en peces endémicos y residentes del SFF Isla Malpelo.

Específicos

- Estimar, analizar y comparar índices de diversidad genética (diversidad haplotípica, diversidad nucleotídica, número de sitios polimórficos, número de haplotipos) para cuatro especies de peces endémicos del SFF Isla Malpelo.
- Construir, interpretar y comparar redes de haplotipos correspondientes a cuatro especies de peces endémicos del SFF Isla Malpelo.
- Comparar los indicadores de diversidad genética de peces endémicos del SFF Isla Malpelo con especies que presenten otros patrones de distribución geográfica.

Metodología

Colecta de muestras.

Alrededor de la isla, y durante un periodo no mayor a un año, se colectaron un total de 30 individuos por cada una de las especies endémicas: *A. rubinoffi*, *A. stephensi*, *H. malpelo*, *C. lepidota*. La colecta de cada individuo se realizó utilizando redes de mano. Considerando la Ley 84 de 1989 del Estatuto Nacional de Protección de los Animales, la cual exige disminuir el estrés de los organismos objetos de investigación, los individuos colectados se trasladaron a un acuario de vidrio, en donde fueron anestesiados con una dosis letal de metasulfonato de tricaina MS-222 (Tricaine-S, Western Chemical Inc.). Esta sustancia se encuentra aprobada por la FDA (Food and Drug Administration) para el manejo de peces (Hinostroza y Serrano-Martínez 2013, Lumb 1963, Carter *et al.* 2011). Posteriormente se extrajo tejido de la aleta pectoral, el cual fue preservado en etanol absoluto y almacenado a -20°C en el laboratorio de Ictiología de la Universidad del Valle. Los organismos fueron depositados en la Colección Ictiológica de la Universidad del Valle (CIR-UV).

Extracción de ADN, amplificación por PCR, secuenciación y alineamiento.

El ADN fue extraído con el kit de extracción Puregen de QIAGEN. Se amplificó la región mitocondrial control (D-loop) con los primers universales CR-A y CR-E (Lee *et al.* 1995). Se escogió este marcador genético mitocondrial debido a que permite detectar la estructura histórica y evolutiva de las especies, puesto que tiene una alta tasa de

mutación, es neutral, matrilineo, no codificante y carente de recombinación (Underwood 2009, Chabot *et al.* 2015). Se siguió un protocolo estándar del método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) bajo las condiciones óptimas de amplificación (Lee *et al.* 1995, Bernardi *et al.* 2014). Los productos de PCR fueron corroborados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, teñidos con Gel-Red y visualizados en un transiluminador de luz UV. Finalmente, los fragmentos amplificados fueron secuenciados a través de la empresa MACROGEN. Una vez se obtuvieron las secuencias purificadas, se alinearon por medio del algoritmo Muscle (Edgar 2004) incluido en el Software Geneious versión 9.1.8 (Kearse *et al.* 2012).

Índices de diversidad y construcción de redes haplotípicas.

Se calcularon el número de sitios polimorficos, número de haplotipos (Hn), la diversidad haplotípica (Hd) y nucleotídica (π), implementado en el programa DnaSP v6 (Rozas *et al.* 2017). Así mismo, para analizar las relaciones entre los haplotipos dentro de cada especie se construyeron redes de haplotipos mediante el programa PopART (Leigh & Bryant 2015), usando el método Median Joining Network (Bandelt *et al.* 1999).

Comparación de estimadores con especies que presentan diferentes patrones de distribución geográfica.

Los diferentes indicadores de diversidad genética de las especies estudiadas fueron comparados con especies ya han sido estudiadas en previos trabajos y pertenecen a la misma familia u orden de las especies endémicas. Las especies consideradas presentan diferentes patrones de distribución geográfica: endémicos de Galápagos (*Lythrypnus gilberti*, *Lepidonectes corallicola*, *Dialommus fuscus*), endémicos del Golfo de California (*Axoclinus nigricaudus*) y ampliamente distribuidos en el Pacífico Oriental Tropical (*Ophioblennius steindachneri*) o en el Indo Pacífico (*Halichoeres claudia* y *Halichoeres ornatissimus*).

Resultados obtenidos:

Se analizaron un total de 25 secuencias para *H. malpelo*, 23 secuencias para *A. rubinoffi*, 27 para *A. stephensi* y seis secuencias para *C. lepidota*. Se obtuvieron alineamientos con longitudes entre 269 pb (*C. lepidota*) y 514 pb (*A. stephensi*). El número de haplotipos por especie varió de 3 a 15. La especie que presentó mayor diversidad haplotípica fue *H. malpelo*, seguida por *A. rubinoffi*, *A. stephensi* y en último lugar, *C. lepidota*. Para la diversidad nucleotídica se observó que *A. rubinoffi* es quien presentó los valores mayores, este indicador en las otras especies conserva un patrón similar al explicado anteriormente.

Se evidenció que la especie *A. stephensi* y *C. lepidota* presentaron un patrón con un haplotipo central compartido por la mayoría de los individuos, y varios haplotipos únicos en los extremos. Por el contrario, en las especies *A. rubinoffi* y *H. malpelo*, varios

haplotipos fueron compartidos por dos o más individuos dentro de la población. No se observó un patrón de distribución de los haplotipos de acuerdo a los diferentes puntos muestreados alrededor de la isla.

Finalmente, después de realizar una comparación de los indicadores genéticos (diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica) entre las especies estudiadas y la información disponible para el mismo gen en la literatura, se observa en todos los casos que las especies endémicas de Isla Malpelo, presentaron los valores más bajos de diversidad genética en comparación con especies similares.

Principales conclusiones y/o recomendaciones

Los valores de diversidad genética en las especies endémicas son inferiores a lo documentado en otras investigaciones con especies emparentadas filogenéticamente. En la familia Gobiidae, *C. lepidota* presentó valores claramente menores a *Lythrypnus gilberti*, dicha diferencia puede deberse al patrón de distribución geográfica que presentan ambas especies. Por una parte, *L. gilberti* está distribuido en varias islas dentro del Archipiélago de Galápagos, el cual presenta una superficie total de 8010 km². En contraste, Isla Malpelo presenta una menor área (1,2 km²), tal característica puede implicar tamaños efectivos menores en las poblaciones de peces endémicos, factor que influye en un aumento de la endogamia y, por ende, pérdida de variabilidad genética (Frankham 1995). Algo similar puede estar ocurriendo entre el lábrido endémico (*H. malpelo*) y las especies *H. ornatissimus* y *H. claudia*, las cuales presentan una distribución amplia en el Océano Índico oriental y Océano Pacífico (Froese & Pauly 2012).

A. stephensi y *A. rubinoffi*, muestran los menores valores de diversidad haplotípica y nucleotídica con respecto a otros blenniformes estudiados. El mayor rango de distribución geográfica de *A. nigricaudus* (177 000 km²) comparado con el de *A. rubinoffi* puede ser un factor que también influye en los mayores niveles de diversidad genética, a pesar de que ambas especies tienen rasgos similares en su historia de vida (Robertson & Allen 2015).

La restricción en la movilidad de los estadios adultos también puede influir en los niveles de diversidad de las especies, debido a que estos rasgos pueden limitar la capacidad de dispersión (Paulay & Meyer 2002). Otro factor que parece influir en la diversidad genética de las especies son los periodos de duración larval (Riginos & Victor 2001). Dichos estadios cuando son largos, pueden implicar una mayor capacidad de dispersión de las especies y por lo tanto un mayor flujo genético entre las poblaciones. Para las especies de blenniformes comparadas, *O. steindachneri* es quien presenta los mayores valores de diversidad genética y a su vez es la especie que reporta mayores periodos de duración larval (50 días; Riginos & Victor 2001) y

distribuciones geográficas más amplias en el Pacífico Oriental Tropical (Robertson & Allen 2015). Por el contrario, las especies de blenniformes restantes presentan duraciones larvales entre 18 y 30 días aproximadamente (Riginos & Victor 2001, Bernardi *et al.* 2014) y menores áreas de distribución geográfica (restringidos a únicamente a Malpelo, Galápagos o Golfo de California).

Los resultados de la presente investigación son consistentes con varios estudios, los cuales han encontrado una relación positiva entre la diversidad genética y el tamaño del rango geográfico (Stebbins 1942, Kruckeberg & Rabinovitz 1985, Hamrick & Godt 1996). Se destaca en trabajo realizado por Eble *et al.* (2009) quienes encontraron en dos de las tres especies endémicas estudiadas (familia Acanthuridae), una diversidad genética mitocondrial menor que las especies con amplia distribución. No obstante, otros trabajos han documentado que esta relación no es consistente (Hobbs *et al.* 2013, Bernardi *et al.* 2014, Delrieu-Trottin *et al.* 2014), por lo cual se sugiere que múltiples factores juegan un papel influyente sobre la diversidad genética de las especies.

La presente investigación permitió explorar, a través de análisis de la región control mitocondrial, el estado de la diversidad genética de los peces endémicos del Santuario de Fauna y Flora Malpelo. Estas especies presentan valores de diversidad haplotípica y nucleotídica menores con respecto a especies cercanas que han sido evaluadas en otras investigaciones. Lo anterior puede deberse a que los rangos restringidos de distribución posiblemente impliquen tamaños efectivos reducidos, o a rasgos en la historia de vida en estas especies que limitan su capacidad de dispersión.

4. Impactos actual o potencial:

Haga una descripción y/o relacione los impactos que tenga el proyecto en los diferentes ámbitos:

Académico (aportes a la docencia, aportes a la formación de recursos humanos): Un joven investigador vinculado al proyecto, con tesis de posgrado (Maestría en Ciencias-Biología) en avance.

Un estudiante de pregrado en Biología, con tesis en avance.

Una ponencia nacional para presentar en el congreso ACICTIOS 2019.

Charla de divulgación científica realizada en la Biblioteca Departamental en octubre de 2018.

Desarrollos futuros:

Al menos un artículo científico publicado.

Si posee información acerca de los impactos actuales o potenciales de la investigación, preséntela en máximo una página. Se refiere a los aportes que ofrece en el campo de investigación al que corresponde. Incluye las tecnologías y resultados de IDi que puedan transferirse a los sectores productivos y de servicios, tanto nacionales como

internacionales.

5. Productos:

Tabla No. 1. Cantidad y tipo de productos pactados en el *Acta de Trabajo y Compromiso* y productos finalmente presentados

TIPO DE PRODUCTOS	No. de PRODUCTOS PACTADOS				No. de PRODUCTOS PRESENTADOS			
Productos de nuevos conocimientos								
Artículo en revista ISI-SCOPUS:	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
Artículo completo publicado en revistas indexadas	A1	A2	B	C	A1	A2	B	C
Libros de autor que publiquen resultados de investigación								
Capítulos en libros que publican resultados de investigación								
Productos o procesos tecnológicos patentados o registrados								
☐ Prototipos y patentes								
☐ Software								
Productos o procesos tecnológicos usualmente no patentables o protegidos por secreto industrial								
Normas basadas en resultados de investigación								
Formación de recursos humanos	No. de estudiantes vinculados		No. de tesis		No. De estudiantes Vinculados		No. De tesis	

TIPO DE PRODUCTOS	No. de PRODUCTOS PACTADOS		No. de PRODUCTOS PRESENTADOS	
Estudiantes de pregrado			1	
Semillero de Investigación				
Estudiantes de maestría			1	
Estudiantes de doctorado				
Joven investigador	1		1	
Productos de divulgación				
Publicaciones en revistas no indexadas				
Ponencias presentadas en eventos (congresos, seminarios, coloquios, foros)	No. de ponencias nacionales	No. de ponencias internacionales	No. de ponencias nacionales	No. de ponencias internacionales
Propuesta de investigación				
Propuestas presentadas en convocatorias externas para búsqueda de financiación.				

Tabla No. 2. Detalle de productos

Para cada uno de los productos obtenidos y relacionados en la tabla anterior, indique la información solicitada para cada uno, anexando copia de las respectivas constancias. Como anexo a este formato encontrará el instructivo para la revisión de informes finales y productos

Tipo de producto:	Productos de nuevo conocimiento: artículo tipo publicable
Nombre General:	Diversidad genética de peces del Santuario de Fauna y Flora Malpelo, con énfasis en las especies endémicas



Nombre Particular:	Diversidad genética de peces del Santuario de Fauna y Flora Malpelo, con énfasis en las especies endémicas
Ciudad y fechas:	Santiago de Cali, junio de 2019
Participantes:	Jose Tavera y Stephania Rojas
Sitio de información:	Vicerrectoría de investigaciones
Formas organizativas:	Universidad del Valle, Parques Nacionales Naturales

Tipo de producto:	Informe final
Nombre General:	Diversidad genética de peces del Santuario de Fauna y Flora Malpelo, con énfasis en las especies endémicas
Nombre Particular:	Diversidad genética de peces del Santuario de Fauna y Flora Malpelo, con énfasis en las especies endémicas
Ciudad y fechas:	Santiago de Cali, junio de 2019
Participantes:	Jose Tavera y Stephania Rojas
Sitio de información:	Vicerrectoría de investigaciones
Formas organizativas:	Universidad del Valle, Parques Nacionales Naturales

La presente versión del informe contiene las observaciones de los evaluadores:

Firma del investigador principal

VoBo. Vicedecano de Investigaciones

Por favor presente su informe impreso y en formato digital en hoja tamaño carta, letra arial 11, con espacios de 1 1/2