

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Caracterización molecular de *Rhamdia sp* (Pisces,
Heptapteridae) “bagre“ del río Pongora, Ayacucho
Perú -2010**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO PESQUERO**

PRESENTADO POR:

Bach. MINAYA GARCÍA, Julio

AYACUCHO, PERÚ

2011

*A la memoria de:
Eugenio Minaya, mi Padre.*

*A mi madre y a mis hijas
Julissa Ibón y Andrea Alessandra*

*A mi madre Corina
y a mis hermanos Marta, Edwin,
Abraham y Parita.*

AGRADECIMIENTO:

- A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por brindarme la formación profesional y a la facultad de Ciencias Biológicas por los logros obtenidos.
- A Hrbek Lab of Animal Genetics and Evolution, University of Puerto Rico, San Juan Puerto Rico.
- Al Museo de Historia Natural de la U.N.M.S.M. Lima.
- A mi asesor: Blgo. Tomás Yuret MIRANDA TOMASEVICH, de la U.N.S.C.H.
- A mi Asesora: Dra. Ximena VÉLEZ ZUAZO de la Universidad de Puerto Rico, por su especial dedicación en este trabajo.
- A los Mg. Julio GARCÍA VARAS, Gilmar PEÑA ROJAS y Carlos CARRASCO BADAJOZ, de la U.N.S.C.H.
- Al Dr. Hernán ORTEGA TORRES y su equipo de investigadores del Museo de Historia Natural de la U.N.M.S.M. de Lima.
- A los Drs. Sergio H. TALAVERA e Ismenia GAMBOA del I.N.M.P. Lima
- Al Mg. Miguel ROMERO C. de IMARPE. Lima.
- Al Mg. Pedro Romero y Bach. Miguel CLAROS de la U.N.M.S.M. Lima.
- A LOS Ing. Carlos CARREÑO MIRANDA, de la D.R.P. Ayacucho, Ismael QUISPE LOAYZA y Zenón CALLE HUAYLLAHUAMAN
- A Cesar, Carlos y toda la familia Gala Villanueva.

INDICE

	Página
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
RESUMEN.....	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. GENERALIDADES.....	4
2.1.1. LA PERSPECTIVA HISTÓRICA.....	5
2.2. DISTRIBUCIÓN CONTINENTAL DE LOS PECES RHAMDIA.....	7
2.2.1. <i>Rhamdia quelen</i> ASIGNADO POR Quoy y Gaimard, 1824.....	8
2.2.2. DISTRIBUCIÓN DE LOS PECES RHAMDIA EN EL PERÚ.....	9
2.2.3. EL RÍO PONGORA.....	12
2.2.4. PECES <i>Rhamdia sp</i> "BAGRE" DEL RÍO PONGORA DE AYACUCHO.....	13
2.2.5. HISTORIA DE LOS PECES RHAMDIA DEL RÍO PONGORA.....	13
2.2.6. SITUACIÓN ACTUAL DE PECES RHAMDIA DEL RÍO PONGORA.....	14
2.3. IMPORTANCIA DE LA <i>Rhamdia sp</i> "BAGRE" DEL RÍO PONGORA.....	15
2.4. CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DE RHAMDIA DE AYACUCHO.....	16
2.5. TAXONOMÍA DE LA <i>Rhamdia sp</i> DE AYACUCHO.....	18
2.6. SISTEMAS DE CARACTERIZACIÓN MODERNAS PARA PECES.....	18
2.6.1. EL ADN.....	18
2.6.2. EL ADN MITOCONDRIAL.....	20
2.6.3. MARCADORES MOLECULARES.....	21
2.6.4. LA TÉCNICA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	22
2.6.5. LA BIOINFORMÁTICA.....	25
2.6.6. BANCO GENÉTICO (GenBank).....	27
2.6.7. CÓDIGO DE BARRAS GENÉTICO (BARCODE).....	29
2.7. ESTUDIOS MOLECULARES EN PECES REALIZADOS EN EL PERÚ.....	32

III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.1.	UBICACIÓN DE ZONA DE ESTUDIO.....	33
3.1.1.	UBICACIÓN POLÍTICA.....	33
3.1.2.	UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN GEOGRÁFICA.....	36
3.2.	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	36
3.2.1.	POBLACIÓN.....	36
3.2.2.	MUESTRA.....	36
3.3.	SISTEMA DE MUESTREO Y TOMA DE DATOS.....	36
3.3.1.	FISIOGEOGRAFIA DEL RÍO PONGORA.....	36
3.3.2.	ORIGEN Y DISTANCIA DEL RÍO PONGORA.....	37
3.3.3.	COLECTA DE PECES BAGRE EN CADA PUNTO.....	37
3.4.	PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.....	38
3.4.1.	CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA.....	38
3.4.2.	OBTENCIÓN DE ADN SECUENCIAMIENTO Y ANÁLISIS MOLECULAR.....	39
IV.	RESULTADOS.....	41
4.1.	FISIOGEOGRAFIA DE LA MICROCUENCA.....	41
4.1.1.	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL AGUA.....	42
4.2.	ORIGEN Y DISTANCIA DEL RÍO EN ESTUDIO.....	42
4.3.	MÉRISTICA Y MORFOMETRÍA.....	42
4.4.	RESULTADOS DE ESTUDIOS MOLECULARES.....	51
4.5.	TAXONOMIA ACTUAL PARA <i>Rhamdia sp</i> DE AYACUCHO.....	65
V.	DISCUSIÓN.....	66
VI.	CONCLUSIONES.....	73
VII.	RECOMENDACIONES.....	74
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
	ANEXO.....	79

Caracterización molecular de *Rhamdia sp* (Pisces, Heptapteridae) “bagre” del río Pongora, Ayacucho Perú–2010.

Autor: Bach. Julio MINAYA GARCÍA

Asesores: Blgo. Tomás MIRANDA TOMASEVICH y Dra. Ximena VELEZ ZUAZO

RESUMEN:

Los peces *Rhamdia sp* “bagre” del río Pongora – Ayacucho pertenecen a los silúridos de la familia Heptapteridae con alta distribución en esta microcuenca. Su identificación por caracteres morfológicos de amplia utilidad, ha resultado insuficiente por la similitud con genotipos muy emparentados y complejos quedando en una taxonomía incompleta. En la actualidad el desarrollo de la tecnología de los ácidos nucleicos permite resolver estas controversias. La presente investigación se desarrolló con el objetivo de realizar la caracterización de la *Rhamdia sp* “bagre” del río Pongora, utilizando el marcador molecular del gen Citocromo oxidasa sub unidad 1 (COI) del ADN mitocondrial para conocer su posición taxonómica. Para este proceso, las capturas de peces bagre fueron sistemáticas entre los meses mayo a agosto del 2010 en el curso del río Pongora. Las evaluaciones morfométricas y merísticas (morfología) se realizaron en el Laboratorio de Ictiología del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de Lima (MUSM) con diez especímenes, que resuelve su inclusión dentro de la especie *Rhamdia quelen*. Los estudios moleculares se efectuaron en Hrbek Lab of Animal Genetics and Evolution University de Puerto Rico utilizando pequeñas porciones de tejido muscular de 20 especímenes, obteniéndose secuencias de nucleótidos en 685 pares de bases (pb) del gen COI del ADN mitocondrial. Para la caracterización molecular de esta especie, las secuencias fueron comparadas con la base de datos del GenBank (NCBI) o Banco genético y el BARCODE (BOLD System) o Código de barras que resuelven una diferencia del 2% con la especie *Rhamdia quelen*, suficiente para considerar como especie nueva. En consecuencia, los peces *Rhamdia sp* “bagre” del río Pongora – Ayacucho, puede definirse como nueva especie restringida a esta microcuenca. Sin embargo, deben ser complementados con análisis de ADN nuclear cuyos resultados definirá finalmente esta divergencia para poder incluir a esta especie en el taxón correspondiente.

Palabras clave: *Rhamdia sp*, ADN mitocondrial, BARCODE

I. INTRODUCCIÓN.

Los siluriformes son peces teleósteos de gran importancia neotropical, su distribución es muy amplia con una gran diversidad de formas que comprende por lo menos 13 familias y con mayor número de especies que ha tenido una radiación importante en las aguas dulces del planeta. Una de estas familias es Heptapteridae, grupo de mayor distribución en aguas tropicales y subtropicales con al menos 250 especies válidas restringidos a ambientes prístinos (Rodiles y col., 2006).

A pesar de su importancia económica (alimentación local, en las culturas precolombinas y el presente), el estatus de muchas especies de la familia Heptapteridae es caótica y diferentes autores emplearon numerosos criterios taxonómicos y nomenclaturales para definirlos. El caso más complicado concierne el género *Rhamdia*, que comprende más especies que otros en Sudamérica, como principales grupos emparentados ampliamente aceptados por la comunidad de ictiólogos, con cierta semejanza externa. Silfvergrip en 1996, publica una revisión sistemática de peces bagres neotropicales (desde México hasta Argentina) donde muchos bagres han sido asignados como *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard, 1824-, agrupados dentro de la familia Pimelodidae y no dentro de la familia Heptapteridae como se conoce actualmente, basados en

datos morfológicos y osteológicos de muestras existentes en museos, por lo que en la actualidad sus teorías son parcialmente válidos en estudios morfológicos y moleculares (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008).

La provincia de Huamanga también cuenta con ríos importantes como Chacco, Pongora, entre otros, que reúnen las condiciones para la existencia de una ictiofauna diversa entre ellos los peces bagres. De estos peces se conoce su abundancia desde tiempos ancestrales poblando todo el curso de los ríos Pongora y Chacco (Landa y col., 2010).

Desde el punto de vista científico, el bagre que habita en el río Pongora de Ayacucho en la actualidad no está identificado como especie dentro de las categorías taxonómicas existentes para la familia Heptapteridae. Los pioneros de estudios exhaustivos para esta especie en esta microcuenca y otros del Departamento de Ayacucho fueron los ictiólogos e investigadores de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH) a partir de los años 1977 en adelante, logrando caracterizar morfológicamente e incluir dentro de la escala taxonómica hasta Género, quedando pendiente la asignación como especie por variaciones morfológicas con otras especies de *Rhamdia* de Sudamérica con las cuales se consideraba incluidas, por lo que no está registrada en la base de datos de la taxonomía ictiológica como: "Fishbase", "Calacademy" ni "Smithsonian Institution", por lo tanto es una especie desconocida para la base científica internacional (García, 2011). La base del dilema es la existencia de complejas modificaciones y adaptaciones morfológicas (radios y espinas, aletas, otolito, etc.) adaptaciones genéticas (limitada capacidad primitiva o reciente dispersión). Aunque para Silfvergrip, todos los peces bagres altoandinos del Perú están considerados como *Rhamdia quelen* con amplio rango de variaciones morfológicas (Andrade y Machado, 2009).

En la actualidad el análisis de ADN como portadora de información genética resuelve este tipo de controversias y brinda conclusiones específicas en la evaluación poblacional e identificación de especies y variedades emparentadas difíciles de discriminar morfológicamente (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008).

Por las razones señaladas el presente trabajo de investigación se ha desarrollado bajo el objetivo general de:

- Caracterizar molecularmente a la especie *Rhamdia* sp “bagre” del río Pongora de Ayacucho.

Los objetivos específicos fueron:

- Caracterizar morfológicamente a la especie *Rhamdia* sp “bagre” del río Pongora de Ayacucho.
- Secuenciar el gen COI de la enzima Citocromo Oxidasa sub unidad 1 del ADN mitocondrial de la especie *Rhamdia* sp “bagre” del río Pongora de Ayacucho.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. GENERALIDADES.

Los peces, constituyen el grupo más diverso de los vertebrados del planeta, comprendiendo poco más de la mitad de las 54 711 especies existentes identificadas (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008). Este número es aproximado ya que continuamente se describen nuevas especies para la ciencia y el número de peces hacia fines de 2006 ha sido de 28 400, por lo que la proyección conservativa considera en unas 32 500 especies actuales, de estas, aproximadamente 21 000 son marinas y el resto de agua dulce (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008).

Los peces neotropicales de América incluyen entre los más importantes a los órdenes Characiformes, Siluriformes y Gymnotiformes, y otros grupos menores como Perciformes y Cyprinodontiformes (López y Miquelarena, 2003). Esta riqueza, en mayor o menor grado se encuentra representada en los diferentes ambientes lóticos, lénticos y estuarinos de la región, alcanzando su máxima expresión en las cuencas del Amazonas, Orinoco y del Plata (Andrade y

Machado 2009). Se estima que 13 familias y más de 2 500 especies se encuentran ubicadas en el Orden Siluriformes, la mayoría habitando las aguas continentales de América del Sur, África y Asia (Rodiles y col., 2006; Andrade y Machado, 2009).

2.1.1. LA PERSPECTIVA HISTÓRICA:

La historia dio lugar a diferentes obras y contribuciones que marcaron las bases ictiológicas en el continente americano principalmente durante el siglo XIX y principios del XX (Betancur, 2003). Entre los aportes más importantes están la colección e identificación de peces hechos por J. Quoy y P. Gairmard entre los años 1810-1828 como resultado de sus viajes alrededor del mundo y los aportes de L. Cuvier y A. Valenciennes (Ringuelet 1975). L. Jenyns, A. Günther, J. Müller y E. Cope describieron en detalle las recolecciones de J. Orton hechos en el Amazonas Peruano (Ringuelet 1975). También Eigenmann realizó trabajos taxonómicos con colecciones obtenidas por la Universidad de Princeton, entre los años 1922-1942 y presentó la primera propuesta ictiogeográfica de los peces continentales neotropicales (Ringuelet, 1975). J. Haseman, discípulo de Eigenmann, luego de su viaje por América del Sur formuló la teoría: “La ictiofauna sudamericana evolucionó de primitivas formas que originalmente vivieron en Norteamérica” (López y Miquelarena, 2003).

Raúl Ringuelet y sus colaboradores (1967-1975), han propuesto dos subregiones sobre el origen de la fauna íctica sudamericana: Brasílica (region Brasileña y Andina) y Austral (región Patagónica) comentando: 1.- “Pocos linajes están ampliamente distribuidos en Centro y Sudamérica, tanto en áreas tropicales y templada-frías”. 2.- “Los linajes más numerosos están presentes solo en áreas tropicales y subtropicales” (sureste de Brasil a noreste de Argentina).

Según López y Miquelarena (2003): “Vari (1988) y Schaeffer (1997), empleando métodos de sistemática filogenética y biogeografía, describieron regiones de endemismo sudamericanas en la distribución de especies de las familias Curimatidae (Characiformes) y Loricariidae (Siluriformes)”. Mientras que Perdices y colaboradores (2002), a través de secuencias mitocondriales trataron las relaciones filogenéticas del género *Rhamdia* en América Central, robusteciendo las propuestas biogeográficas dadas para la región.

En los últimos 26 años el número de contribuciones han aportado más detalles al conocimiento biogeográfico de los peces continentales del Neotrópico (López y Miquelarena, 2003). A pesar de ello, la ecología de muchas especies de Heptaptéridos es poco conocida, debido a sus hábitos principalmente nocturnos y la porción de hábitat ocupado (fondo de los ríos) (Andrade y Machado, 2009). Y según Levy y sus colaboradores (2000): “Los miembros de esta familia son de aspectos bizarros lo que los ha convertido en ítems acuáticos por excelencia, y que en países como Brasil, Colombia y Venezuela, su valor en la industria es alto debido a su rareza, exuberante coloración y desarrollo de estructuras especiales durante la época reproductiva”. Aspectos como su ubicación en el hábitat y sus hábitos son factores esenciales para proponer planes de manejo, permitiendo su explotación sostenible en el tiempo (Andrade y Machado, 2009).

Ringuelet (1975), dice: “En la región Neotropical (Sudamérica) se estima que la familia Heptapteridae integra aproximadamente 150 a 200 especies válidas, y entre 40 y 50 especies por ser descritas, cuya riqueza es difícil de determinar dado el escaso conocimiento sobre su taxonomía”. Y para Rodiles y colaboradores (2006), uno de cada 20 vertebrados es un bagre (catfish), además aclara que existen 3 000 especies válidas y 1 700 especies indescritas distribuidas en todo el planeta, tanto marinos y dulceacuícolas, con mayor

diversidad en ambientes dulceacuícolas de Sudamérica, Asia y África. Según Silfvergrip (1996): “En la actualidad existen muchas especies asociadas con los peces bagres neotropicales del género *Rhamdia* que con otros géneros de la Familia Pimelodidae”. Y de casi cien especies nominadas, un cuarto de ellas están siempre asociadas con la *Rhamdia bleeker* (Perdices y col., 2002).

2.2. DISTRIBUCIÓN CONTINENTAL DE LOS PECES RHAMDIA.

La ictiofauna continental de los Heptaptéridos se caracteriza por poseer aproximadamente el 24% del total de los peces del mundo, lo que representaría 1/8 de la biodiversidad de los vertebrados (López y Miquelarena, 2003), ampliamente distribuido en casi todos los ambientes, niveles altitudinales y bajo condiciones climáticas extremas de la región, su riqueza va acompañada por una notable diversidad morfológica tanto externa como interna (Reis y col., 2003).

Los peces *Rhamdia* “bagre” registran hábitats desde el sur de México (región Centroamericana), pasando por Guatemala, Nicaragua, Costa Rica, Guayana, Guayana francesa, Surinam, Trinidad y Tobago, Cuba, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Brasil, Bolivia, Paraguay, Uruguay, hasta el centro de Argentina (región Sudamericana) (Silfvergrip 1996; Reis y col., 2003; Ferraris, 2007). Su mayor abundancia y diversidad corresponden a cuencas de la Orinoquia, Amazónica, y Paranaense (Silfvergrip 1996). En Bolivia: Habita en los ríos Mamoré, Matos, Curiraba, La Paz, Curi, y el lago Normandi. En Colombia: En la mayoría de los ríos. En Costa Rica: en los ríos Liberia, Ballena, Santa Clara y Toro. En Ecuador: En los ríos Blanco, Baba, Verde, Durango, Quito, etc. En Argentina y Brasil: En el Paranaense y mayoría de ríos. En Venezuela: Cuenca del Orinoco, Portuguesa, etc. (Silfvergrip, 1996; Ferraris, 2007).

2.2.1. *Rhamdia quelen* ASIGNADO POR Quoy y Gaimard 1824:

La sistemática del género *Rhamdia* es confusa hasta la actualidad (Perdices y col., 2002). Los registros indican que la *Rhamdia quelen* fue descrito originalmente por Quoy y Gaimard como *Pimelodus quelen* en 1824, cambiando a *Rhamdia quelen* en el mismo año (Ringuelet 1975). En 1996, Silfvergrip publica sus estudios: "Revisión sistemática de peces bagres neotropicales", de una amplia revisión de peces bagres y donde asigna sólo 11 especies de las 121 anteriormente descritas, agrupándolos dentro de la *Rhamdia bleekeri* y dentro de la familia Pimelodidae, pero sus muestras no fueron analizadas a fondo por la expansión geográfica, limitándose a revisiones de morfología externa e interna en pocos especímenes de colecciones ictiológicas y literatura (Reis y col., 2003). Para Silfvergrip, la *Rhamdia quelen* cuenta con 49 sinonimias, y otras denominaciones han quedado como sinónimos no válidos al ser referencias de ejemplares jóvenes (Ferraris, 2007).

2.2.1.1. SINONIMIAS:

Silfvergrip en 1996 menciona estas sinonimias: *Pimelodus namdia*, *Pimelodus (Rhamdia) sebae* (Cuvier, 1829); *Pimelodus (Rhamdia) hilarii*, *Pimelodus (Rhamdia) pentlandi* (Valenciennes, 1840); *Pimelodus depei*, *Pimelodus musculus*, *Pimelodus sellonis* y *Pimelodus steglichii* (Müller y Troschel, 1849); *Pimelodotus (Rhamdia) wilsoni* y *Rhamdia wilsoni* (Gill, 1858); *Pimelodus (Rhamdia) cinerascens*, *Pimelodus (Rhamdia) godmani*, *Pimelodus micropterus* y *Pimelodus wuchereri*, (Günther, 1864); *Rhamdia baronis mülleri* y *Pimelodus baronis mülleri* (Troschel, 1865); *Pimelodus wagneri* y *Rhamdia wagneri* (Günther, 1868); *Rhamdia bransfordii* (Gill, 1877); *Pimelodus cuyabae*, *Pimelodus parahybae* y *Pimelodus queleni cuprea* (Steindachner, 1877); *Rhamdia guatemalensis oaxacae* y *Rhamdia oaxacae* (Meek, 1902); *Rhamdia*

depressa (Babour y Cole, 1906); *Rhamdia barbata* (Meek, 1907); *Pimelodus boucardi*, *Rhamdia heteracantha* y *Rhamdia heteracanthus* (Regan, 1907); *Rhamdia nasuta* (Meek, 1909); *Rhamdia branneri* y *Rhamdia branneri voulezi* (Haseman, 1911); *Rhamdia mounseyi* (Regan, 1913); *Rhamdia riojæ* (Fowler, 1915); *Rhamdia microps* (Eigenmann, 1924); *Rhamdia pubescens* (Miranda-Ribeiro, 1920); *Silurus rivularis* (Larrañaga, 1923); *Rhamdia micayi*, (Eigenmann, 1924); *Rhamdia quelen urichi*, *caecorhamdia urichi* y *Caecorhamdella urichi* (Norman, 1926); *Rhamdia guatemalensis murieri*, *Rhamdia guatemalensis decolor* y *Rhamdia guatemalensis stygaea* (Hubbs, 1936); *Rhamdia saijaensis* (Rendahl, 1941); *Rhamdia seabe martyi* (Güntert, 1942); *Rhamdia lehmanni* (Dahl, 1961).

2.2.1.2. NOMBRES COMUNES:

En América del sur es conocido vulgarmente como "bagre". En Argentina: bagre, bagre negro, pez sapo, pez gato; en Brasil: bagre, bagre-tinga, jandía-tinga, mandi y sapipoca; en Bolivia: bagre; en Colombia: capitanejo; en Ecuador: barbudo; en Paraguay: nurundiá, bagre sapo; en Perú: bagre, bagre común, pez gato, barbas; en Uruguay: moncholo lagunero, bagre de arroyo; en Trinidad y Tobago: silver catfish; en Guayana francesa: bakadyaki, barbe la-roche, blablaroch, dyaki, kyokyoyou y poson barb (Levy y col., 2000).

2.2.2. DISTRIBUCIÓN DE LOS PECES RHAMDIA EN EL PERÚ:

El Perú es uno de los países con mayor diversidad de hábitats del mundo, por su amplio intervalo latitudinal, altitudinal y variados climas, que permite albergar entre ellos una ictiofauna muy diversa con más de un millar de especies nativas reconocidas (1 010 registradas) y con una proyección estimada de 1 300 especies (Ortega y col., 2010).

El conocimiento de la ictiofauna de aguas continentales en el Perú, se inicia con la contribución de Eigenmann (1942) y Fowler (1945) y se incrementa de forma continuada desde 1972, así la colección de peces del Museo de Historia Natural de la Universidad de San Marcos (MUSM) actualmente alberga aproximadamente 450 000 especímenes, representando más de 1 000 especies entre nativas e introducidas (Ortega y col., 2010).

La nueva lista que se presenta actualmente incrementa el número de registro de 735 en 1986 a un total de 1 010 especies nativas continentales para el Perú. En cuanto a su composición taxonómica 381 especies (38%) son Characiformes (peces escamados), 384 especies (38%) son Siluriformes (bagres) y 61 especies (6%) son Gymnotiformes (peces eléctricos), los que en conjunto conforman el superorden Ostariophysii. Seguidamente, con una moderada riqueza se registran Perciformes (9%) Cyprinodontiformes (6%). Finalmente, los órdenes Clupeiformes, Myliobatiformes, Pleuronectiformes, Beloniformes y siete órdenes más conforman un 4% de la ictiofauna continental Peruana (Ortega y col., 2010).

La familia con más número de especies es Characidae (241 especies, 24%), seguido por Loricariidae (119 especies, 12%); Cichlidae (69 especies, 7%), Callichthyidae y Pimelodidae (42 especies, 4% cada uno respectivamente); Doradidae (36 especies, 3.6%), Heptapteridae (36 especies, 3.6%), y Curimatidae (34 especies, 3%) entre las de mayor riqueza (Ortega y col., 2010).

Además gran parte de los andes del Perú no han sido evaluados exhaustivamente, por lo que el patrón de distribución de las especies conocidas aparenta ser muy disperso (Ortega y col., 2010). Es posible que estas áreas, alberguen especies restringidas (endémicas) o géneros cuya taxonomía aún no

han sido resueltas. La proyección de la diversidad total de peces de agua dulce para nuestro país debe ser mayor a lo previamente estimado por Ortega y colaboradores, considerándose hasta 1 200 especies. Adicionalmente, revisiones que están en marcha por investigadores peruanos, en grupos como *Trichomycterus*, *Ancistrus*, *Chaetostoma* y en géneros de Heptapteridae, están reportando un poco más de 20 especies aún no descritas, que pueden revelar especies nuevas y/o endémicas (Ortega y col., 2010).

Los peces *Rhamdia* "bagres" constituyen especies más comunes de la familia Heptapteridae y Pimelodidae que habitan en aguas de la vertiente pacífica y atlántica, la Amazonia y el lago Titicaca, incluso en aguas de mar a nivel de la costa Pacífica del norte, con tamaños variables, los más grandes se encuentran en aguas de la sabana amazónica (Ortega y col., 2010).

Según las versiones de Ferraris (2007) y Ortega y col. (2010): Los archivos y colecciones de peces *Rhamdia* del Perú se encuentran en diferentes bancos y museos del Perú y el mundo, que indican su distribución de la siguiente manera: *Pimelodus (Rhamdia) parvus* (Boulenger, 1898), para los ríos Santiago, Bomboiza, Marañón; *Cetopsorhamdia filamentosa* (Fowler, 1945), (Bockmann y Guazzelli, 2003); Valle de Chanchamayo, ríos Tulumayo y Ucayali; *Chasmocranus peruanus* (Eigenmann y Pearson, 1942), *Chasmocranus quadrizonatus* (Pearson, 1937), (Bockmann y Guazzelli, 2003), ríos Marañón y Amazonas; *Pimelodella hartwelli* (Fowler, 1940), (Bockmann y Guazzelli, 2003), río Ucayali; *Rhamdella montana* (Eigenmann, 1913), (Bockmann y Guazzelli, 2003); río Ucayali y tributarios; *Pimelodus (Rhamdia) Pentlandii* (Cuvier y Valenciennes, 1840), (Silfvergrip, 1996), Lago Titicaca, río Apurímac, Tulumayo y Huambo; *Pimelodus (Rhamdia) quelen* (Quoy y Gaimard, 1824), (Silfvergrip, 1996); *Rhamdia dorsalis* (Gill, 1870), *Rhamdia duquei* (Eigenmann y Allen 1942),

Pimelodus sebae, *Pimelodus nandia* (Cuvier, 1829), (Silfvergrip, 1996), *Heterobranchus sextentaculatus* (Spix y Agassiz, 1829), (Silfvergrip, 1996), para la mayoría de ríos de la selva como Loreto, quebradita y tributario de los ríos Samiria, Amazonas, Marañón, Urubamba, Santa Ana, y Napo; *Pimelodus bathyurus* (Cope, 1878), (Silfvergrip, 1996), río Amazonas; *Rhamdia mounseyi* (Regan, 1913), (Silfvergrip, 1996), río Ucayali; *Rhamdia riojae* (Fowler, 1915) Rioja, Moyobamba, Puerto Baka y río Huallagua; *Rhamdia ortonii* (Fowler, 1915), río Amazonas; *Silurus ribularis* (Larrañaga, 1923), (Silfvergrip, 1996), (Bockmann y Guazzelli, 2003), Loreto, quebradita y tributarios del río Samiria; *Silurus 9-radiatus* (Larrañaga, 1923), (Silfvergrip, 1996), nombre alternativo del *Silurus ribularis*, para Loreto, quebradita y tributarios de río Samiria; *Rhamdia xetequepeque* (Silfvergrip, 1996), (Bockmann y Guazzelli, 2003), río Jequetepeque; *Microglanis zonatus* (Eigenmann y Allen, 1942), (Shibatta, 2003), río Morona y Amazonas.

2.2.3. EL RÍO PONGORA:

Los ríos Chacco, Pongora y sus afluentes como la mayoría de los ríos de esta provincia son predominantemente de aguas claras de volumen regular, posee generalmente fondo arenoso y rocoso pobre en nutrientes y de poca capacidad amortiguadora (*buffer*), pero estas deficiencias se ven compensadas con el aporte de materiales alóctonos (sedimentos, insectos y materia orgánica) que se deposita en épocas de lluvias (enero a marzo) y en ocasiones llega a inundar terrenos circundantes por el desborde de sus aguas. Al escasear las lluvias reduce su caudal y sedimenta la turbidez mejorando la penetración de la luz, haciéndolas propicias para una producción planctónica que hace posible su biodiversidad (Cesel ing., 2009).

Este río es la principal fuente de vida para los habitantes de sus márgenes y cercanías, porque consumen directamente sus aguas en la preparación de sus alimentos, riego de áreas de cultivo y bebederos de sus ganados. También la pesca local de bagres, sardinillas y truchas, forma parte complementaria de su dieta (Ceseling., 2009).

2.2.4. PECES *Rhamdia sp* “BAGRE” DEL RÍO PONGORA DE AYACUCHO:

Los peces bagre del río Pongora, al igual que otros bagres neotropicales, habitan en todo el curso y sus tributarios (Landa y col., 2010). Ocupan principalmente zonas con profundidades medias de 1 metro en corrientes moderadas y suaves, escondido en fondos arenoso-rocoso, bajo raíces y troncos de árboles podridos cubiertos de vegetación exterior, son de hábito alimenticio nocturno con una tasa de crecimiento muy pronunciado en los primeros años de vida, los machos crecen más que las hembras hasta el segundo año, cuando la situación se invierte a favor de las hembras que crecen más rápido, en consecuencia, las hembras presentan mayor talla (Landa y col., 2010).

2.2.4.1. NOMBRE COMÚN:

Es conocido con los nombres: bagre, bagrecillo y barbas.

2.2.5. HISTORIA DE LOS PECES RHAMDIA DEL RÍO PONGORA:

Esta especie se considera autóctona, debido a que su permanencia desde tiempos ancestrales ha sido abundante y continua según la versión popular de sus habitantes, porque es parte de su alimentación local en las culturas precolombinas y continúa hasta el presente. Estos peces bagres permanecen muy distribuidos en toda esta microcuenca y sus tributarios pero manteniendo su etología territorial (Landa y col., 2010). Aunque registros históricos oficiales de esta especie no existen, solo las colecciones que hay en el Museo de Historia

Natural de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH) que datan de los años 1976 en adelante que son datos relacionados a su identificación morfológica, distribución, reproducción y contenidos estomacales (García, 2011).

Su existencia en el río Pongora, posiblemente se debe a un evento de captura hidrológica de una porción de la Cuenca Cachi - Mantaro causado por eventos tectónicos (Betancur, 2003). Su biología está estrechamente ligado a movimientos espaciales y temporales con la altitud, temperatura, pendiente y velocidad de la corriente para lo cual estos bagres han desarrollado adaptaciones especiales (Buitrago, 2006), que indican su ciclo vital y los procesos demográficos como la competencia intraespecífica o la migración denso-dependiente poblacional (Ortega y col., 2010).

2.2.6. SITUACIÓN ACTUAL DE PECES RHAMDIA DEL RÍO PONGORA:

Actualmente estos bagres son relativamente estables, con mayor presencia en épocas de crecidas de río (Andrade y Machado, 2009). Cabe señalar también que actualmente la actividad humana evidencia un proceso acelerado de impacto ambiental negativo que amenaza su ecosistema, por contaminación directa en los cuerpos de agua y la invasión de empresas extractoras de arena en varios puntos a lo largo del río, que está reduciendo y migrando su población (Landa y col., 2010).

Para la ciencia, la especie *Rhamdia sp* "bagre" del río Pongora se encuentra en situación indeterminada a nivel de especie y se cree que pertenece a una nueva especie por su adaptación evolutiva, pero evidencias científicas de ello están en evaluación desde que se inició su estudio en los años 1976 basados en características morfológicas, merísticas, hábitos alimentarios y hábitat, realizado

por investigadores de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, entre ellos la realizada por Martha Romero (1984) en su tesis: "Estudio morfológico del bagre del río Yucaes de Ayacucho", no habiendo otros aspectos considerables para incluir como especie nueva para la taxonomía existente (García, 2011). Razón por lo que Silfvergrip (1996), Reis y col., (2003) y Ferraris (2007) no lo citan a la *Rhamdia sp* en sus publicaciones para los ríos de esta región, evidenciando estas limitaciones y controversias taxonómicas, y al respecto menciona la FAO (2004): "Esta especie, como tantos otros, frecuentemente citada en la literatura científica local, se mantiene aislado para la investigación en gran parte por falta de interés y divulgación mundial de su elevado número de características morfológicas particulares, ejemplo: patrón de ramificación de rayos en las aletas y algunos atributos del sistema esquelético que sustente su posición filogenética, haciendo muy tedioso su estudio".

Actualmente este río es fuente de actividad económica directa para las empresas dedicadas a la extracción de arena como materia prima, que se encuentran asentadas y cubren buena parte del lecho, actividad que ejerce presión y altera directamente toda la biodiversidad del río hasta su migración y desaparición de las especies más sensibles (Landa y col., 2010).

2.3. IMPORTANCIA DE LA *Rhamdia sp* "BAGRE" DEL RÍO PONGORA.

Su importancia en la nutrición es significativa porque estos peces son fuente de proteínas en la dieta complementaria de los habitantes asentados alrededor de toda esta microcuenca desde tiempos ancestrales, como una importante contribución del ecosistema con base sustentable en períodos de crecida del río que se repite anualmente (Landa y col., 2010).

Desde el punto de vista económico representa una especie muy valiosa que puede ser domesticado y desarrollar su explotación mediante cultivos intensivos que promueva su consumo y valor agregado, tal como se viene practicando con grandes resultados en países vecinos como: Brasil, Argentina, Colombia y Venezuela (Andrade y Machado, 2009).

Científicamente esta especie representa parte importante de nuestra historia desde su migración, adaptación y valor taxonómico, la que todavía no se ha podido concluir hasta hoy, aún más si es amenazado por efectos de la contaminación e invasión de empresas extractoras de arena (García, 2011).

2.4. CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DE RHAMDIA DE AYACUCHO.

Fenotípicamente, la especie *Rhamdia sp* "bagre" del río Pongora presenta estructuras morfológicas similares a la *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard 1824-, por las siguientes características: Cuerpo alargado ligeramente comprimido lateralmente en su sección posterior. La cabeza grande y levemente achatada. Boca ancha dispuesta frontalmente y labio superior saliente. Cuenta con un par de barbillas maxilares largas que puede sobrepasar las aletas pectorales y bajo la mandíbula inferior dos pares de barbillas más cortas (Silfvergrip, 1996).

a) Talla y Morfometría: Adultos entre 20 y 35 cm con un peso máximo de 0.70 kg. En proporciones porcentuales las medidas se expresan sobre la talla (TL) del cuerpo. Distancia preanal (57,1); distancia predorsal (28,2); distancia prepélvica (41,2); distancia prepectoral (18,9); altura del cuerpo (18,9); longitud de la cabeza (23,7), (Landa y col., 2010).

- b) Estructura y coloración dérmica:** Piel viscosa desprovista de escamas de color gris verdoso con tendencia amarronado, vientre blanquesino, el dorso y la cabeza poseen ligeras manchas dérmicas no muy notorias (Landa y col., 2010).
- c) Aletas:** Aleta dorsal con mayor altura, aleta adiposa ancha y corta, las aletas dorsales y pectorales provistas de una espina punzante, la aleta caudal cuenta con dos lóbulos iguales (Silfvergrip, 1996).
- d) Agua y Temperatura:** Soporta un amplio rango de pH y dureza, pH entre 4.0 y 8.5, aguas semiblandas a duras y temperaturas entre 18° y 28°C, aunque pueden pasar periodos invernales a 14°C (Levy y col., 2000).
- e) Alimentación:** Son omnívoros, su dieta preferentemente es de peces pequeños, insectos y crustáceos, larvas, gusanos y caracoles, adicionando algas y hojas podridas que son fáciles de hallar (Levy y col., 2000).
- f) Comportamiento:** Posee carácter territorial, con individuos de su misma especie, y otros siluriformes que compiten por territorio (Levy y col., 2000).
- g) Diferencias sexuales:** La papila genital de los machos se encuentra más desarrollada y prominente (Landa y col., 2010).
- h) Reproducción:** Son ovulíparas, la madurez sexual alcanzan alrededor de un año de edad en ambos sexos, tiene dos picos de reproducción al año (verano y primavera), con buena sincronización entre machos y hembras para el desove que usualmente ocurre de madrugada, en aguas poco profundas (remansos y ojos de agua limpia, tranquila y fondo arenoso), estas no son muy adherentes y tienen diámetros entre 1,1 y 2,8mm. El desarrollo embrionario y larval es rápido y tarda entre 3 a 5 días, a temperatura constante (a 22°C) los huevos eclosionan en 48 horas) (Levy y col., 2000).

2.5. TAXONOMÍA DE LA *Rhamdia sp.*

- Reino : Animal
- Phylum : Chordata
- Subphylum : Vertebrata
- Serie : Pisces
- Superclase : Gnathostomata
- Clase : Osteichthyes
- Subclase : Actinopterygii
- Superorden : Teleostei
- Orden : Siluriformes
- Suborden : Nematognathina
- Familia : Heptapteridae
- Género : *Rhamdia*
- Especie : *Rhamdia sp*

Clasificación taxonómica hasta Género según: (Quoy y Gaimard, 1824; Eigenman y Eigenmann, 1890; Fowler, 1945; Ringuélet, 1975). Citados en: (Oretga, 1995; Silfvergrip, 1996; Reis y col., 2003; Ferraris, 2007).

2.6. SISTEMAS DE CARACTERIZACIÓN MODERNAS PARA PECES.

2.6.1. EL ADN:

El núcleo celular es una estructura característica de las células eucariotas, que contiene la mayor parte del material genético celular, organizado en cromosomas, basados cada uno en una hebra de ADN con acompañamiento de un conjunto de proteínas, como las histonas (Karp, 2005). El cromosoma se forma fundamentalmente de la interacción entre el ADN, las histonas y las

proteínas no histónicas (Palacios y Villoslada, 2005). Por lo tanto, la función del núcleo es mantener la integridad de estos genes y controlar las actividades celulares a través de la expresión génica (Karp, 2005).

El ADN (ácido desoxirribonucleico) es una macromolécula que contiene la información hereditaria necesaria para el funcionamiento de todos los organismos vivos (Lodish y Berk, 2005), tiene localización principalmente nuclear, con capacidad de autorreplicación, estabilidad y variabilidad que permite cambios de la información (mutación) que hacen posible la variabilidad fenotípica y la evolución (Palacios y Villoslada, 2005).

Las unidades estructurales básicas del ADN son los desoxirribonucleótidos, los cuales están formados por un azúcar (desoxirribosa) y un grupo fosfato que cumple una función meramente estructural y una base nitrogenada portadora de la información necesaria para sintetizar las proteínas (Lodish y Berk, 2005). Existen cuatro bases nitrogenadas diferentes que dan lugar a cuatro desoxirribonucleótidos: Dos bases púricas (con estructura de doble anillo), Adenina (A) y Guanina (A) y dos pirimidicas (de anillo simple), Timina (T) y Citosina (C). Estos cuatro se encadenan millones de veces unos tras de otros por unión de azúcares del primero con el contiguo a través del grupo fosfato formando cadenas de secuencias terminadas de ADN que codifican toda la diversidad de organismos (Palacios y Villoslada, 2005; Lodish y Berk, 2005).

Las distintas especies de vertebrados tienen, en esencia casi los mismos genes, en otras palabras, sus respectivos genomas (conjunto de todos sus genes), lo cual se debe a que comparten una historia evolutiva y descienden de un ancestro común (López y Miquelarena, 2003). Estas tienden a mantener su estructura y función a pesar de la acumulación de mutaciones producida desde la separación de la descendencia del ancestro común en especies diferentes

(Posik y col., 2007). Por esta razón, cuando se comparan las secuencias de genes homólogos correspondientes a diferentes especies es posible advertir "regiones conservadas" de las moléculas de ADN de su genoma (sin diferencias entre secuencias de nucleótidos de distintas especies) y "regiones variables" (diferencias entre especies) (Posik y col., 2007).

2.6.2. EL ADN MITOCONDRIAL:

Las mitocondrias y cloroplastos, son orgánulos granulares o filamentosas que se encuentran en un medio acuoso de la célula animal y vegetal llamado citoplasma (Karp, 2005). Estos orgánulos también tienen ADN organizado en cromosomas, con características de herencia extranuclear que están formadas por dos membranas y dos compartimientos, que constituyen enzimas y coenzimas que trabajan de manera integrada para suministrar energía a la célula (Karp, 2005).

Según la teoría endosimbiótica difundida por Lynn Margulis (1960), el ADN mitocondrial tiene un origen bacteriano por un mecanismo de simbiosis entre la bacteria y la célula eucariota primitiva. Por esto, las mitocondrias poseen su propio sistema genético llamado ADN mitocondrial (ADNmit) y cada mitocondria posee múltiples copias de su ADN en una única célula (Lodish y Berk, 2005).

El ADN mitocondrial es circular sin intrones, histonas ni regiones reguladoras extras, todas estas características son propias del ADN bacteriano (Karp, 2005). Este ADN mitocondrial codifica un total de 37 genes (13 genes codificantes de proteínas, 2 genes ARNr y 22 genes ARNt) que participan en la cadena respiratoria y poseen toda la maquinaria para sintetizar proteínas a partir de su ADN (Palacios y Villoslada, 2005). No sufre procesos de recombinación y posee una tasa de mutación más rápida, que conduce a la acumulación de diferencias,

incluso entre especies evolutivamente muy cercanas, así casi toda la secuencia del ADN mitocondrial es codificante (97%) (Posik y col., 2007).

En la fecundación todas las mitocondrias son aportadas por el óvulo y por tanto tienen origen materno (y las mitocondrias del espermatozoide que le proporcionan energía durante su carrera no penetran en el óvulo), es lo que se conoce como la herencia materna. Dado que un cigoto recibe un número elevado de mitocondrias del óvulo, esta se transmitirá a las estirpes celulares a que dé origen (Palacios y Villoslada, 2005). Este hecho hace que la genética mitocondrial tenga características propias. Todas las células de un individuo normal tienen el mismo ADN mitocondrial, es lo que se conoce como "Homoplasmia" (Palacios y Villoslada, 2005).

2.6.3. MARCADORES MOLECULARES.

Los marcadores moleculares son fragmentos específicos del ADN que pueden ser identificados dentro del genoma (Posik y col., 2007), se utilizan para marcar la posición de un gen específico o la herencia de una característica particular y útiles para medir el alcance de la variación a nivel genético, dentro de las poblaciones y entre ellas (FAO, 2004). Se clasifican principalmente en dos tipos: marcadores mitocondriales y nucleares. Los marcadores de DNA mitocondrial, que se utilizan mucho, son en orden decreciente de secuencias conservadas ADNr 12S; ADNr 16S; Citocromo oxidasa (COI); Citocromo b; región de control (RC), donde el ADNr 12S es muy estable y el RC es muy variable, por lo que su aplicación está dirigida a la filogenia basada en ADN, estudios de ADN fósil y análisis funcional de genes (Palacios y Villoslada, 2005). Los marcadores nucleares ampliamente utilizados para las huellas genéticas incluyen el polimorfismo ampliado de la longitud del fragmento (AFLP) y los microsátelites (Lodish y Berk, 2005) con método más directo y eficiente para el manejo de

germoplasma, conservación genética de especies en peligro de extinción, determinar la identidad, rastrear migraciones en la pesca, agricultura, ganadería y ecología de poblaciones (Posik y col., 2007).

2.6.4. LA TÉCNICA REACCIÓN EN CADENA DE LAPOLIMERASA (PCR):

La PCR (Polymerase Chain Reaction, en inglés), técnica ideada por Kary Mullis (1986), es una técnica que imita el proceso natural de replicación del ADN en las células de los organismos eucariotas llevado a cabo por polimerasas (enzimas que sintetizan a los ácidos nucleicos) del ADN (Lodish y Berk, 2005).

La técnica se basa en sintetizar *in vitro* secuencias específicas de una cadena complementaria de ADN en una secuencia de reacciones que duplicaría el número de moléculas de ADN (Lodish y Berk, 2005). Estas enzimas realizan la síntesis en el sentido 5' → 3' usando un molde de cadena sencilla, pero a partir de una región de doble cadena, y para crear esta región de doble cadena se usan los denominados iniciadores o cebadores (*primers*) (Lodish y Berk, 2005). Estas delimitan la zona de ADN a amplificar. Para tal fin se emplean ADN polimerasas termoestables (extraídas de microorganismos termófilos arqueas), de secuencias cortas, entre seis y cuarenta nucleótidos, (de 18 a 22 normalmente), que permiten que la polimerasa inicie la reacción (Palacios y Villoslada, 2005). Hoy todo el proceso de la PCR está automatizado mediante un aparato llamado "Termociclador" que mantiene la temperatura necesaria al calentar y enfriar los tubos de reacción (efecto Peltier) en cada etapa que conforma un ciclo de la PCR convencional (Posik y col., 2007).

El análisis se puede realizar por dos vías diferentes: Uno es con cebadores (*primers*) universales que permiten amplificar fragmentos de ADN de cualquier especie de mamíferos, luego se hace la digestión de dichos fragmentos con enzimas de restricción que cortan el ADN en secuencias específicas (Posik y

col., 2007). El resultado de este proceso consiste en un patrón de bandas, semejante a un código de barras que es diferente para cada especie debido a las regiones variables que se comparan con los patrones correspondientes a las especies declaradas por el fabricante del producto analizado (Posik y col., 2007). El otro camino que utiliza la PCR para amplificar pequeños fragmentos seleccionados del ADN recurre a cebadores específicos o propios de cada especie diseñados a partir de las regiones variables, lo que resulta en fragmentos de amplificación de tamaños diferentes. La identidad de cada especie se detecta por la presencia o ausencia de bandas (Posik y col., 2007).

2.6.4.1. CICLOS DE PCR:

El proceso de PCR por lo general consiste en una serie de 20 a 35 ciclos de temperatura, cada ciclo suele consistir en 2-3 pasos a diferentes temperaturas, precedidos por un choque térmico a alta temperatura (>90°C) y seguido por otro choque térmico al final del proceso para la extensión de producto final o breve almacenaje (Posik y col., 2007).

➤ Inicio:

Este paso lleva la reacción hasta una temperatura de 94 - 96°C (ó 98°C si se está usando una polimerasa termoestable extrema), que se mantiene durante 1 a 9 minutos, necesario sólo para ADN polimerasas que requieran activación por calor (Posik y col., 2007).

➤ Desnaturalización:

En primer lugar, se desnaturaliza el ADN (se separan las dos hebras) de diferentes modos, siendo el calentamiento de la muestra la forma más habitual (94-95°C por 30 segundos a un minuto). La temperatura para la desnaturalización depende de la proporción de G+C que tenga la hebra, como del largo de la misma. Otros métodos, raramente empleados en la técnica de la

PCR, serían la adición de sales o agentes químicos capaces de realizar la desnaturalización (Posik y col., 2007).

➤ **Alineamiento o unión del cebador (hibridación):**

A continuación el cebador se unirá a su secuencia complementaria en el ADN molde (hibridación). Para ello es necesario bajar la temperatura a 45°C-65°C por 20 a 40 segundos (según el caso), permitiendo el alineamiento. Los puentes de hidrógeno estables entre las cadenas de ADN (unión ADN-ADN) sólo se forman cuando la secuencia del cebador es muy similar a la secuencia del ADN molde. La polimerasa une el híbrido de la cadena molde y el cebador, los cebadores actuarán como límites de la región a ser amplificada (Posik y col., 2007).

➤ **Extensión o elongación de la cadena:**

El ADN polimerasa actúa, tomando el ADN molde para sintetizar la cadena complementaria. La polimerasa sintetiza una nueva hebra de ADN complementaria a la hebra molde añadiendo los dNTP complementarios en dirección 5'→ 3', uniendo el grupo 5'-fosfato de los dNTP con el grupo 3'-hidroxilo del final de la hebra de ADN creciente (la cual se extiende). La temperatura depende del ADN polimerasa que usemos. Para la polimerasa Taq la temperatura de máxima actividad está en 75°C a 80°C (comúnmente 72°C). El tiempo de extensión depende tanto del ADN polimerasa usada como de la longitud del fragmento de ADN que se va a amplificar, en su temperatura óptima la polimerasa de ADN polimerizará mil bases en un minuto (Posik y col., 2007).

➤ **Elongación final:**

Etapa única que se lleva a cabo a una temperatura de 70-74°C durante 5-15 minutos tras el último ciclo de PCR. Con ella se asegura que cualquier ADN de cadena simple restante sea totalmente ampliado (Posik y col., 2007).

➤ **Conservación:**

Se lleva a cabo de 4 a 15°C por tiempo indefinido para conservar la reacción a corto plazo. Todo este proceso de la PCR normalmente se realiza con un volumen de de 15-100 µL, en microtubos de plástico autoclavable (Eppendorf™) de 0.2-0.5 mL que se colocan en el termociclador (Posik y col., 2007).

➤ **Verificación:**

Para verificar que la PCR ha generado el fragmento de ADN previsto, típicamente se emplean electroforesis en gel de agarosa para fragmentos grandes, en acrilamida para los más pequeños y de forma más rápida y aplicable a la PCR asociada a marcaje fluorescente (Posik y col., 2007).

Los procesos de PCR tienen un costo relativamente alto pero que en los últimos años viene descendiendo y recientes modificaciones de la técnica de la PCR en tiempo real permiten cuantificaciones precisas y confiables en las distintas aplicaciones industriales (Posik y col., 2007).

2.6.5. LA BIOINFORMÁTICA:

Bioinformática es una disciplina científica emergente que utiliza tecnología de la información para organizar, analizar y distribuir información biológica con la finalidad de responder preguntas complejas en biología. Según la definición del Centro Nacional para la Información Biotecnológica "National Center for Biotechnology Information" (NCBI por sus siglas en Inglés): Bioinformática es un campo de la ciencia en el cual confluyen disciplinas como: Biología, computación y tecnología de la información. Su finalidad es facilitar el descubrimiento de nuevas ideas y crear perspectivas globales a partir de las cuales se puedan discernir principios unificadores en biología (Gill y col., 2006).

Al comienzo de la "revolución genómica", el concepto de bioinformática se refería sólo a la creación y mantenimiento de base de datos donde se almacena

información biológica (secuencias de nucleótidos y aminoácidos). Pero su desarrollo significaba también el desarrollo de interfaces complejas donde los investigadores pudieran acceder los datos existentes y suministrar o revisar otros. De allí surge la bioinformática y ahora el campo más popular es el análisis e interpretación de secuencias de nucleótidos y aminoácidos, dominios de proteínas y estructura de proteínas (Gill y col., 2006).

El proceso de analizar e interpretar los datos es conocido como biocomputación o bioinformática. Dentro de ella existen otras sub-disciplinas importantes como el desarrollo e implementación de herramientas que permitan el acceso, uso y manejo de varios tipos de información, como el desarrollo de nuevos algoritmos (fórmulas matemáticas) y estadísticos con los cuales se pueda relacionar partes de un enorme conjunto de datos, como por ejemplo métodos para localizar un gen dentro de una secuencia, predecir la estructura o función de proteínas y poder agrupar secuencias de proteínas en familias relacionadas. Razón que la bioinformática permite comprender la información brindada por hipótesis biológicas, y a partir de un análisis y procesamiento de estas, controlar, acelerar, o detener, una serie de procesos naturales, que trata con una gran diversidad de datos de organismos vivos de los ecosistemas, de los problemas ambientales y de la salud humana, para luego generar resultados precisos (Gill y col., 2006).

El extraordinario avance de la genética molecular, la genómica, la bioinformática médica y la Telemedicina constituyen áreas científico-tecnológicas de desarrollo e Innovación del futuro inmediato. Por lo que se pretende potenciar su aplicación creando centros de investigación de excelencia, y distribuidos en red para el apoyo a la secuenciación, DNA microarrays y DNA chips, bioinformática, en coordinación con la red de centros de investigación genómica y proteómica que se proponen en el área de Biotecnología (Gill y col., 2006).

2.6.6. BANCO GENÉTICO (GENBANK):

GenBank es un archivo (base de datos) de secuencias de DNA obtenidas como resultado de investigaciones específicas, avaladas mediante publicación formal, que se ponen a disposición de la comunidad científica secuencias de ADN (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008). Se trata pues de un sistema público, abierto y cooperativo, sostenido por el National Center of Biotechnology Information (NCBI). GenBank nació en 1982, por parte de los Institutos Nacionales de Salud (National Institutes of Health, NIH), y su crecimiento está siendo espectacular desde hace diez años, que ahora incluye cerca de doscientos mil millones de bases de secuencias genéticas de ADN producidas en laboratorios de todo el mundo. GenBank es parte de "International Nucleotide Sequence Database Collaboration", que está integrada por la base de datos de ADN de Japón: "DNA DataBank of Japan" (DDBJ), el Laboratorio Europeo de Biología Molecular: "European Molecular Biology Laboratory" (EMBL), y el GenBank en el "National Center for Biotechnology Information" (NCBI). Estas organizaciones intercambian datos diariamente (Lanteri, 2007).

Los registros de GenBank se pueden consultar en diferentes configuraciones de ficheros y mediante diversas interfaces de recuperación y explotación: principalmente "Entrez", el sistema con que también se utiliza PubMed, y BLAST, un conjunto de herramientas especializadas para el tratamiento informático de biosecuencias (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008).

Las comunicaciones directas con GenBank se hacen utilizando BankIt, (formato en Web), o el programa independiente Sequence. Tras la recepción de una secuencia, el personal de GenBank asigna un número de acceso a la secuencia y realiza controles de calidad. Luego, las presentaciones son publicadas en la base de datos y pueden ser recuperables por Entrez o se puede descargar por

FTP. La mayoría de las presentaciones de Expressed Sequence Tag (EST), Sequence Tagged Site (STB), Genome Survey Sequence (SSG), etc., son presentadas por centros de secuenciación (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008).

2.6.6.1. BLAST (Basic Local Alignment Search Tool):

Gill y col., (2006) dice: "El Blast es una herramienta (programa) de búsqueda de similitud diseñada para explorar todas las bases de datos de secuencias, para ello utiliza el algoritmo de Smith y Waterman (1981) o el algoritmo de Sellers (1984)". "Además realiza alineamientos locales entre secuencias de nucleótidos o aminoácidos sin permitir la presencia de vacíos (Gaps) en el segmento alineado", se utiliza principalmente para identificar secuencias y obtener secuencias similares a la secuencia que poseemos, donde BLAST devuelve todos los pares de segmentos mejor alineados (aquellos segmentos cuyo score es inmejorable ya sea por extensión o corrimiento del segmento).

Existen varios tipos de BLAST, la búsqueda depende de nuestra secuencia problema (**query**) y la base de datos (**db**) que queremos:

- **nBLAST**: Compara q: nucleótidos, db: nucleótidos.
- **pBLAST**: Compara q: aminoácidos, db: aminoácidos.
- **blastX**: Compara q: nucleótidos traducidos, db: aminoácidos.
- **tblastn**: Compara q: aminoácidos, db: nucleótidos traducidos.
- **tblastx**: Compara q: nucleótidos traducidos, db: nucleótidos traducidos.

Para realizar una comparación elegimos "Nucleotide blast" y colocamos nuestra secuencia problema en la ventana, luego se elige la opción "nr" y finalmente elegimos "Blast" para obtener el score (Gill y col., 2006).

2.6.7. CÓDIGO DE BARRAS GENÉTICO (BARCODE):

En 2003, el doctor Paul Hebert, y un grupo de científicos de la University of Guelph (Canadá) propuso usar una secuencia de unos 500 nucleótidos del gen mitocondrial del Citocromo Oxidasa subunidad 1 (COI) como un código de barras genético (identificador universal) para especies animales, en analogía con los "códigos de barras" de uso comercial debido a su pequeña variación intraespecífica, en comparación con su variación interespecífica (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008). La propuesta ganó rápidamente aceptación y como resultado se constituyó al año siguiente el "Consortium for the Barcode of Life" (CBOL), una organización de museos, universidades y laboratorios de todo el mundo, estableciendo que el gen COI, que codifica para la enzima mitocondrial Citocromo Oxidasa 1, es el único código de barras oficialmente reconocido por el CBOL, cuya misión es el desarrollo de este sistema genético de identificación de especies (Hebert y Gregory 2005 citado por Lanteri, 2007).

La primera conferencia internacional sobre Código de barras de la vida (Barcoding life) tuvo lugar en el "Natural History Museum" de Londres en el año 2003 y contó con la participación de 200 científicos de 50 países (Marshall, 2005, citado por Lanteri, 2007). Se dispuso de un sistema, donde las secuencias patrón deben ser obtenidas de ejemplares testigos (*vouchers*) de clasificación linneana, depositados en instituciones científicas, de manera que su identidad pueda determinarse correctamente todas las veces que sea necesario mediante las prácticas taxonómicas tradicionales (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008). Este sistema significó un avance notable con respecto a los estándares taxonómicos empleados por "GenBank" dado que una gran parte de los 40 millones de secuencias acumuladas en dicha base desde 1982 (el 90% en los últimos cinco años), no cuenta con "vouchers" de los ejemplares estudiados (Lanteri, 2007).

En el año 2004 se creó la secretaría del "Barcode of Life" en el National Museum of Natural History, Washington DC, USA, Smithsonian Institution y el "Consortium for the Barcode of Life" (CBOL) al cual se unieron numerosos museos de historia natural, herbarios y organizaciones científicas de diferentes países (www.barcodinglife.si.edu. citado por Lanteri, 2007). Hoy el CBOL integran más de 150 organismos de cincuenta países (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008).

El CBOL ha lanzado también proyectos globales para probar que es posible la identificación de especies mediante el uso de la secuencia barcode en el corto plazo, como son: "All Birds Barcoding Initiative" (ABBI), (www.barcodingbirds.org) y al "Fish Barcode of Life" (FishBOL), (www.fishbol.org), para obtener las secuencias de todas las especies de aves y peces del mundo, respectivamente (Tubaro, P. 2008). Últimamente se han adicionado otros como: El "Ali Lep Barcode of life" (www.lepbarcoding.org) cuya finalidad es obtener el código de barras de las 180 000 especies conocidas de Lepidóptera, y para la identificación de especies invasoras y plagas, el INBIPS o "Internacional Network for Barcoding Invasive and Pest species" (www.barcoding.si.edu/INBIPS.htm). (Lanteri, 2007; Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008). De aquí en adelante, el código de barras genéticos brinda una herramienta poderosa para la identificación de restos colectados en estudios sanitarios, el control de tráfico legal e ilegal de especies silvestres (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008).

2.6.7.1. USO DEL CÓDIGO DE BARRAS GENÉTICO:

El primer paso consiste en obtener las secuencias del gen de referencia (el de la COI para animales) a partir de muestras de tejido de individuos identificados mediante los métodos morfológicos clásicos y depositados en colecciones de museos que pueden ser revisados todas las veces que sea necesario para confirmar su identidad (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008). El segundo paso es

almacenar toda la información de las secuencias en una base de datos a la que pueda accederse libremente. Por último, cualquier nueva muestra puede ser comparada con la base de datos y encontrar el nombre de la especie a la que pertenece la muestra incógnita. Con este propósito se ha creado el “Barcode of Life Data System” (BOLD) una plataforma informática que almacena la secuencia y todos los datos asociados al proceso y su ejemplar testigo, además permite ingresar una secuencia incógnita y recuperar una identificación. En la actualidad existen en todo el mundo más de 377 000 secuencias pertenecientes a más de 38 000 especies, la mayoría almacenadas en BOLD (Lanteri, 2007).

La descripción de nuevas especies depende que si la secuencia investigada no corresponde con ninguna de la base de datos de las especies conocidas, puede significar que estamos frente a una nueva entidad. La confirmación de una nueva especie requiere de evidencias morfológicas, hábitos, genética, etc., Así, el código de barras genético ayuda a los taxónomos en el descubrimiento de una parte importante de la biodiversidad del planeta (Tubaro, 2008).

2.6.7.2. EL FISHBOL (FISH BARCODE OF LIFE) O CÓDIGO DE BARRAS DE LOS PECES:

El FishBOL es una red electrónica mundial de base datos que incluye un código de barras específico basado en la secuenciación génica del COI, imágenes digitalizadas de especímenes de referencia y coordenadas geográficas de los ejemplares examinados, para la identificación y el descubrimiento de nuevas especies de peces (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008).

La base de datos a su vez, relaciona información sobre especímenes de referencia, aspectos de nomenclatura y rangos de distribución provista por taxónomos expertos, historias de vida y referencias bibliográficas de cada especie (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008). Hasta la fecha hay unos 28 500

ejemplares de peces pertenecientes a 4 500 especies diferentes cuyos códigos de barras genéticos han sido obtenidos. La aplicación del código de barras en especies de interés comercial es de vital importancia, por ejemplo, en la lista de especies nominales del catálogo FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) (Tubaro y Díaz de Astarloa, 2008).

2.7. ESTUDIOS MOLECULARES EN PECES REALIZADOS EN EL PERÚ.

Para que el sistema de identificación genética de especies pueda utilizarse, primero debe construirse una gran base de datos con las secuencias de referencia contra las que puedan compararse las secuencias incógnitas (Tubaro, y Díaz de Astarloa, 2008). Es evidente que en el Perú no se han construido bases de datos nacional ni regional, actualmente los esfuerzos se encuentran en el secuenciamiento de genes de unas especies en particular promovido por algunas universidades y centros de investigación y se esperará algún tiempo para acceder a los resultados y masificar los avances. Para los estudios e investigaciones en peces la entidad especializada nacional que resalta es el Instituto del Mar del Perú (IMARPE), que tiene un área destinado a los estudios de ADN molecular, que todavía está en implementación, pero con enfoque solamente a especies marinos del Perú.

Las informaciones que pueden obtenerse de algunos trabajos en peces solo son extractos de resultados hechos en alguna universidad que circulan en el internet., y acceder al trabajo en su integridad en los bancos de información, es un verdadero escollo hasta obtener la autorización del propio autor.

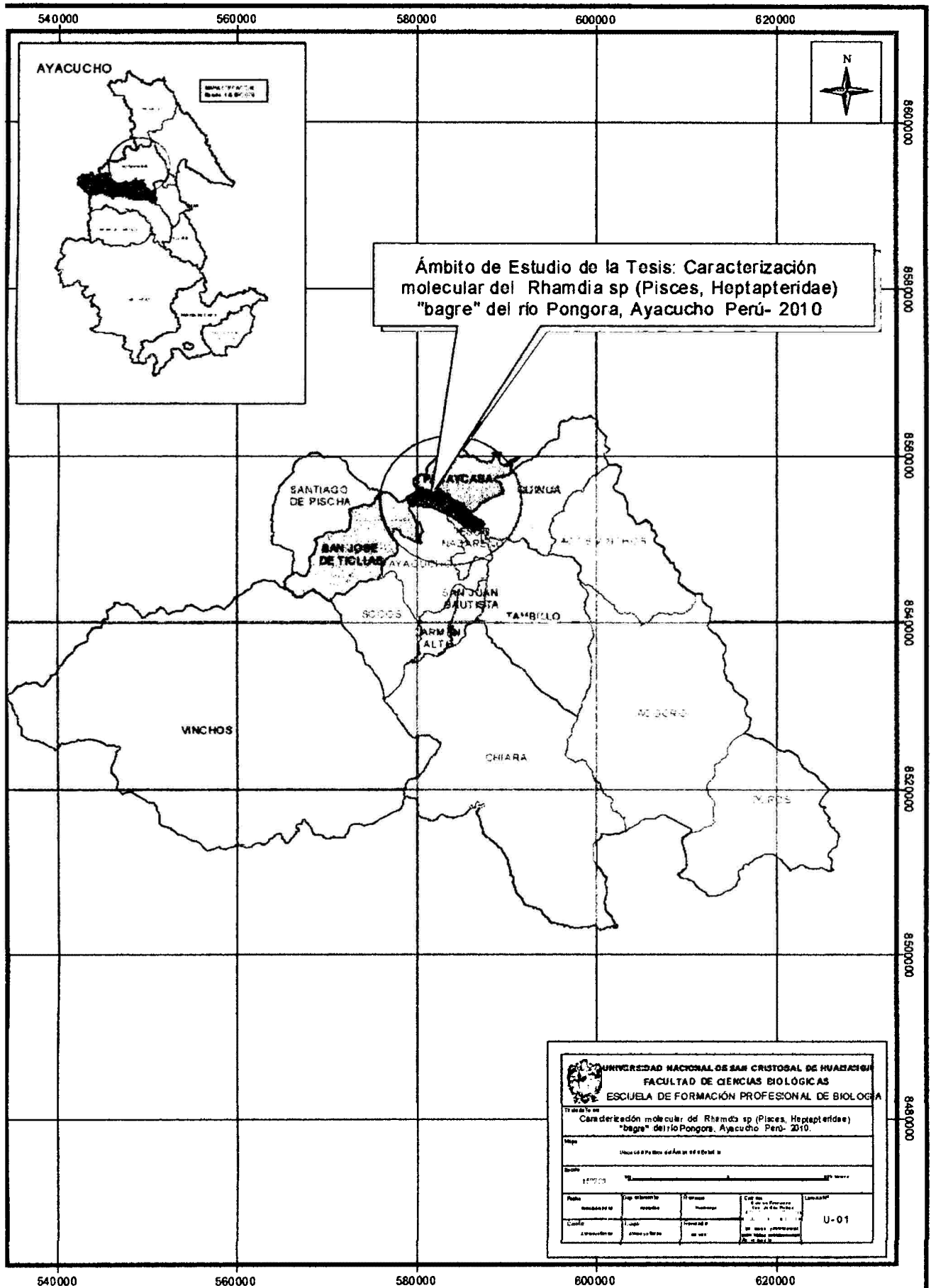
III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN DE ZONA DE ESTUDIO.

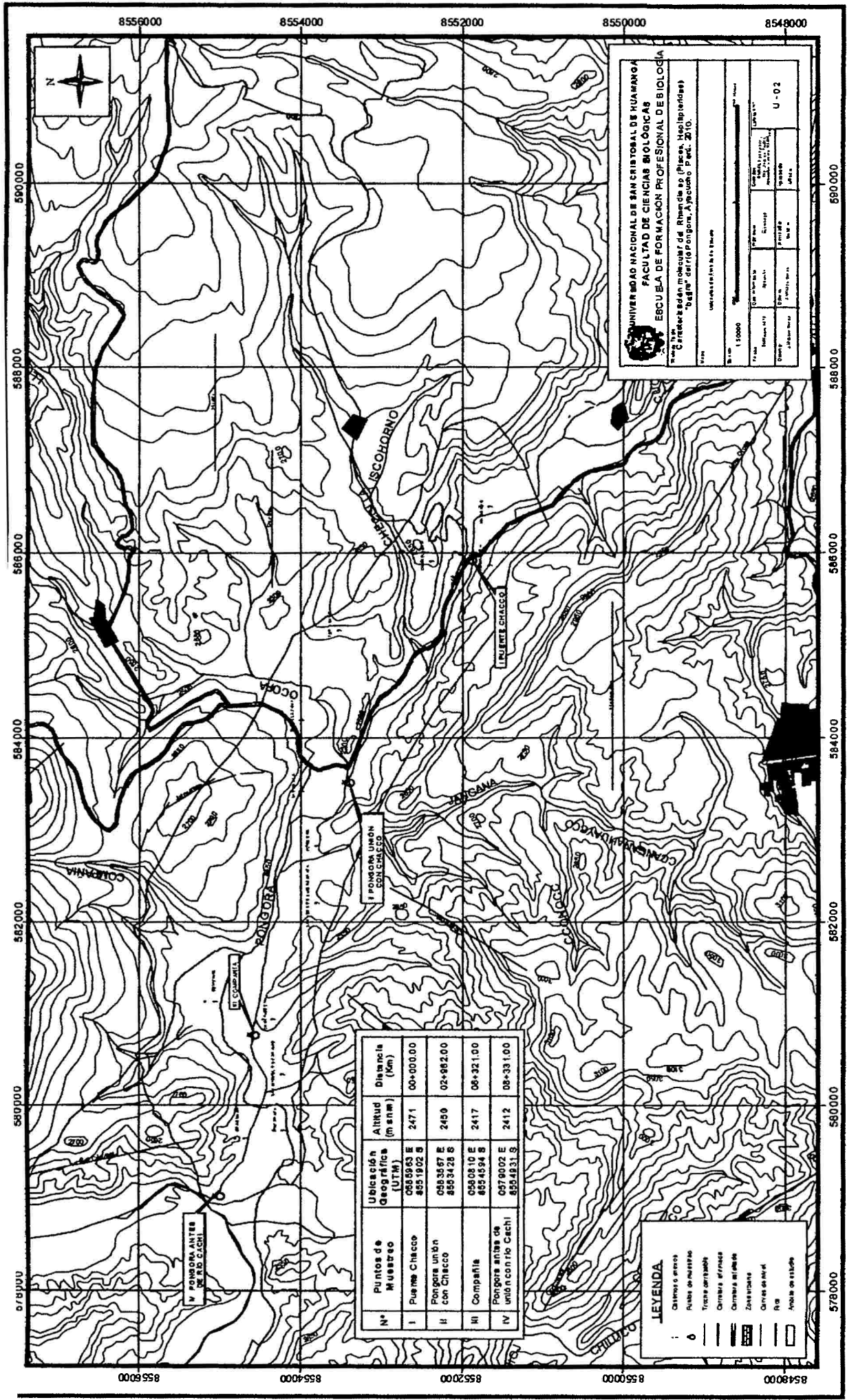
3.1.1. UBICACIÓN POLÍTICA:

- DEPARTAMENTO : Ayacucho
- PROVINCIA : Huamanga
- DISTRITOS : Ayacucho - Jesús Nazareno – Pacaycasa -
Quinoa
- LOCALIDAD : Chacco y Compañía

La información política se muestra en el mapa N° 01, y la información geográfica y coordenadas se muestran en el mapa N° 02.



Mapa N° 01: Ubicación política de la zona de estudio en la provincia de Huamanga. Ayacucho 2011.



N°	Puntos de Muestreo	Ubicación Geográfica (UTM)	Altitud (m snm)	Distancia (km)
I	Pue. Chacco	058 59 63 E 855 19 02 S	2471	00-000.00
II	Pongora unión con Chacco	058 55 57 E 855 54 28 S	2450	02-082.00
III	Compañía	058 08 10 E 855 45 54 S	2417	06-321.00
IV	Pongora anexo de unión con río Cachi	057 00 02 E 855 53 31 S	2412	08-331.00

LEYENDA

- Contorno cerrado
- Río
- Trocha de muestreo
- Trocha de riego
- Cercado
- Cercado de riego
- Zona de estudio
- Cercado de riego
- Río
- Área de estudio

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
 FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
 ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

Trabajo de tesis:
 Caracterización molecular de *Rhizoctonia sp.* (Fusarium, *Ascomycota*)
 Criterios de selección de Rhizoctonia sp. (Fusarium, *Ascomycota*)
 "Criterios de selección de Rhizoctonia sp. (Fusarium, *Ascomycota*)"

Alumno:
 Sánchez, Cristóbal

Fecha:
 2011

Escuela:
 U-02

Mapa N° 02: Ubicación geográfica de la zona de estudio en la Provincia de Huamanga, Ayacucho 2011.

3.1.2. UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN GEOGRÁFICA:

A lo largo del ámbito de estudio se demarcaron los límites considerados inicial y final donde resalta las características de esta microcuenca. La ubicación de las coordenadas geográficas, las altitudes y distancia total fueron determinadas con un equipo de posicionamiento global (GPS), información que se muestra en el mapa N° 02 y cuadro N° 16 del Anexo.

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA.

3.2.1. POBLACIÓN:

Todos los peces *Rhamdia sp* “bagre” que habitan en el río Pongora.

3.2.2. MUESTRA:

La muestra fue conformada por 65 especímenes de peces con características morfológicas pertenecientes a *Rhamdia sp* “bagre”, colectados de los puntos de muestreo seleccionados en función de la abundancia y zona representativa, sistemáticamente con una frecuencia mensual desde mayo a agosto del 2010 (ver mapa N° 2, cuadro N° 1).

3.3. SISTEMA DE MUESTREO Y TOMA DE DATOS.

Para el sistema de muestreo y toma de datos se consideró previamente las características del ámbito de estudio. Estas características fueron tomadas solo como base referencial de diagnóstico de hábitat de estos peces bagres.

3.3.1. FISIOGEOGRAFIA DEL RÍO PONGORA:

Se ha determinado su ubicación dentro del mapa ecológico del Perú según INRENA. Se constató su biotemperatura ambiental promedio según los registros teóricos determinados.

Se ha evaluado las características Físico-químicas del río Pongora durante el período de captura de los peces bagres, los que se muestran en el cuadro N° 15 del Anexo.

3.3.2. ORIGEN Y DISTANCIA DEL RÍO EN ESTUDIO:

Se determinó la distancia total entre el punto de origen y final a lo largo del ámbito de estudio, donde se establecieron cuatro puntos de muestreo de acuerdo a la abundancia de peces bagre y área representativa.

➤ PUENTE CHACCO (I):

Punto de partida del área de estudio y el primer punto de muestreo.

➤ UNIÓN ENTRE RÍO CHACCO Y PONGORA (II)

Es el segundo punto de muestreo.

➤ COMPAÑÍA (III):

Es el tercer punto de muestreo.

➤ PONGORA ANTES DE LA UNIÓN CON RÍO CACHI (IV):

Es el cuarto y último punto de muestreo del área de estudio.

3.3.3. COLECTA DE PECES BAGRE EN CADA PUNTO:

Para la captura de especímenes se buscó en cada uno de los puntos de muestreo, zonas con aguas tranquilas ausentes de perturbación humana y ganadera que indiquen indicios de su presencia (aguas con rocas grandes y troncos podridos sumergidos). Para las colecciones se emplearon dos técnicas usuales en la localidad. La primera: Para capturas diurnas, lanzando al río atarraya de red de nylon (de 1/2 de luz de malla), capturando especímenes vivos. La segunda: Para capturas nocturnas se construyó aparejos artesanales (trampa embudo) llamados por los lugareños como "tuyco". Construido a base de listones o varillas de sauce fresco de un metro de largo con boca ancha de 50 cm de diámetro y una base angosta de 10 cm de diámetro sujeto a un bolso de red anchovetera (de 1/4 de luz de malla), las que fueron colocadas al atardecer en

posibles puntos de tránsito y desove de los reproductores (remansos del río) lográndose capturar peces vivos, los que se recogieron al amanecer.

Los bagres fueron seleccionados in situ, por método visual directo de otros peces como platijas (*Astroblepus sp*), sardinillas (*Creagroutus cochuii*) y truchas (*Oncorhynchus mykiss*), y enseguida trasladados en baldes de plástico de 18 litros con abundante agua e inyección de oxígeno hacia acuarios previamente acondicionados en el zoológico (CERE) de la UNSCH, de donde se extraían para los estudios requeridos en el laboratorio previa muerte por asfixia.

3.4. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.

3.4.1. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA:

La caracterización morfológica, inicialmente se estableció en el Laboratorio de recursos hidrobiológicos y el Laboratorio de genética de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH, donde se registraron diferentes medidas corporales (morfométricas) utilizando un ictiómetro de 50 cm., con aproximación de 0.1 cm., y un calibrador. Describiéndose caracteres morfológicos externos (Cabeza, boca, ojos, radios y espinas de las aletas, posiciones y patrón de coloración, mediciones de barbillas), y comparados con catálogos y muestras del Laboratorio de recursos hidrobiológicos y el museo de historia natural de la UNSCH y sus descripciones originales. La Metodología y terminología para las mediciones como para la identificación taxonómica se hicieron utilizando la guía "Revisión Sistemática de los Géneros Rhamdia Neotropicales" de Silfvergrip (1996). Pero, para Mayor referencia se contó con la colaboración del museo de historia natural (Laboratorio de Ictiología) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de Lima (UNMSM), para donde se envió un lote de muestras representativas de diez especímenes de bagre de diferentes tallas (cuatro

machos y seis hembras), sacrificados y acondicionados en un frasco cilíndrico de vidrio transparente con tapa hermética de 1.5 litros de capacidad, agregándose alcohol absoluto hasta llenar totalmente el frasco para mantener la rigidez cadavérica y evitar su descomposición (ver fotografías N° 01 y 02).

3.4.2. OBTENCIÓN DE ADN, SECUENCIAMIENTO Y ANÁLISIS MOLECULAR:

Para el análisis molecular se dispuso de otra muestra representativa de diez unidades de bagres a los cuales también se les adicionó las diez muestras de las preparadas para el estudio morfológico. Para este propósito, se han extraído pequeñas porciones de tejido muscular del flanco derecho, cerca al pedúnculo caudal debajo de la línea lateral de cada espécimen (fotografía N° 04).

Inicialmente, la extracción de ADN se ha propuesto realizar en el Centro de Investigación en Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH. Pero por falta de reactivos y recursos se ha tenido la posibilidad de realizarlo en otra entidad, encontrándose el apoyo de "Hrbek Lab of Animal Genetics and Evolution University of Puerto Rico", con sede en San Juan Puerto Rico (Centroamérica) para la extracción y secuenciamiento del ADN. Para tal proceso las muestras de tejido fueron colocados en Microtubos de plástico autoclavable de 2.00 ml con adición de alcohol absoluto hasta su llenado con la finalidad de preservar inalterable el ADN de la muestra, autosellándose con la tapa. Cada muestra fue rotulada con una etiqueta y colocada dentro de una bolsa Ziplock, lográndose enviar 20 muestras en total. Para las extracciones y secuenciamiento del ADN mitocondrial, la Universidad de Puerto Rico utilizó todas las muestras óptimas de las enviadas, el protocolo y equipo del kit fue a criterio de su laboratorio.

Para aislar el gen Citocromo Oxidasa del ADN mitocondrial, se trabajó mediante el uso del kit DNAeasy (QIAGEN®) obteniéndose una resuspensión final de 20uL. Mediante el uso de un espectrofotómetro se estimó la concentración de ADN/uL y se realizó una dilución para obtener un ADN stock a 20ng/uL. Un microlitro de ADN se utilizó para un PCR, (La mezcla maestra del PCR está compuesta por concentraciones específicas agua ultrapura, Taq polimerasa (enzima), los cebadores específicos para amplificar el COI, una sustancia amortiguadora, y dinucleótidos sueltos). Lográndose una mezcla con volumen final de 8uL. Luego de la reacción de PCR se verificó el éxito de la amplificación mediante la ayuda de un gel de agarosa corrido en una cámara electroforética. Finalmente, se realizó una limpieza del producto amplificado para eliminar restos de cebadores y dinucleótidos.

Para el análisis de la secuencia estas fueron enviadas a las facilidades de secuenciamiento de la misma Universidad donde se realizó el análisis de composición de bases, con el programa Sequencher™.

El análisis final se llevó a cabo mediante comparaciones de estas secuencias de nucleótidos con otras secuencias de especies similares depositado en la base del Genbank y el Barcode que logre identificar a esta especie.

IV. RESULTADOS

4.1. FISIOGEOGRAFIA DEL RÍO PONGORA:

Según el Mapa Ecológico del Perú (ONERN 1984, INRENA 2005), y Holdridge (1963), el río Pongora corresponde a la zona de vida: Estepa Espinosa - Montano Bajo Subtropical (ee-MBS), con una biotemperatura promedio de: Anual máxima de 19.5°C., y anual mínima de 12.8°C. El promedio máximo de precipitación anual es de 570 mm., y el mínimo de 290 mm, citado por CESEL Ing., (2009). En los márgenes del río se ubican las localidades de Chacco, Compañía, Viñaca, Chanchará.

Parte del relieve circundante es empinado con pendientes de 50 a 70%, con laderas que descienden al río, presenta monte Ribereño formado por pequeños bosques de *Schinus molle* "molle", *Cortaderia jubata* "sacuara", *Acacia macracantha* "huarango", *Salix chilensis* "sauce", *Spartium junceum* "retama", *Baccharis lanceolata* "chilco", *Tecona sambucifolia* "huanahuay", *Caesalpinia spinosa* "tara", *Opuntia ficus indica* "tuna", *Agave americana* "cabuya", *Dodonaea*

viscosa "chamana". Muchas áreas ribereñas han sido modificadas por los lugareños con fines agrícolas y de uso recreativo.

4.1.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL AGUA.

Los valores son promedios solo del periodo de muestreo y captura para cada punto de muestreo (ver cuadro N° 15 del anexo).

4.2. ORIGEN Y DISTANCIA DEL RÍO EN ESTUDIO:

Comprende un pequeño tramo del río Chacco (2.96 Km) y mayor tramo del río Pongora hasta su desembocadura en el río Cachi (6.32 Km), con una distancia total de 8.55 km.

➤ PUENTE CHACCO (I):

Con coordenadas: 74° 12' 25.30 longitud este y 13° 05' 51.93 latitud sur, a 2471 msnm.

➤ UNIÓN ENTRE EL RÍO CHACCO Y PONGORA (II)

Con coordenada: 74° 13' 45.02 longitud este y 13° 05' 2.50 latitud sur, a 2450 msnm., y a una distancia de 2.96 Km del primer punto.

➤ COMPAÑÍA (III):

Con coordenadas: 74° 15' 16.68 longitud este y 13° 04' 24.81 latitud sur, a 2417 msnm., y a una distancia de 6.32 Km del primer punto.

➤ PONGORA ANTES DE LA UNIÓN CON RÍO CACHI (IV):

Con coordenadas: 74° 16' 16.74 longitud este y 13° 04' 14.01 latitud sur, a 2412 msnm., y a una distancia de 8.55 Km del primer punto (ver cuadro N° 16 del anexo).

4.3. MERÍSTICA Y MORFOMETRÍA.

Las mediciones y conteos se hicieron en el flanco izquierdo de cada espécimen.

Los valores morfométricos fueron tomadas con ictiómetro de 50 cm., cinta métrica, pinzas y un calibrador (0.1 mm margen de error). Las mediciones fueron

hechos de punto a punto y estandarizadas en proporciones del cuerpo, así la longitud de la cabeza y las subunidades de la cabeza se presentaron como proporciones de longitud de la cabeza (LC), la distancia interorbital fue estandarizada al ancho de la cabeza (Liorb), y las medidas de partes del cuerpo fueron dadas como proporciones de longitud estándar (LS), las mediciones de barbillas en proporciones de longitud estándar (LS), La distancia hasta el inicio de la aleta dorsal como longitud predorsal (LPd), la altura del pedúnculo según la altura máxima del cuerpo y las demás medidas respecto a la longitud estándar. Estas fueron comparadas utilizando muestras del laboratorio, fotografías de archivos y catálogos de muestras similares. La Metodología y la terminología para las mediciones y de los datos numéricos fueron tomadas de las claves taxonómicas vigentes actualmente.

CUADRO N° 01: Número de capturas de especímenes en los cuatro puntos de muestreo durante los meses mayo – agosto del 2010.

PUNTOS DE MUESTREO	PERIODOS DE CAPTURA								TOTAL
	Mayo		Junio		Julio		Agosto		
	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra	
I	00	01	01	01	00	00	00	00	03
II	01	03	02	01	00	00	00	00	07
III	04	06	02	04	03	02	01	02	24
IV	06	05	04	07	03	03	01	02	31
Total	26		22		11		06		65

I = Puente Chacco

III = Compañía

II = Unión río Chacco y Pongora

IV = Pongora antes de la unión con río Cachi

CUADRO N° 02: Morfometría de *Rhamdia* sp "bagre" del río Pongora según el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 2010.

Orden: Siluriformes **Familia:** Heptapteridae **Especie:** *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824)

Ejemplar	LS	LC	LPd	Liorb	LPanel	N° radios		Lsup	Linf	Aleta Pectoral			Aleta Dorsal		
						Lsup	Linf			Espina	Sierras	Espina	Sierras	Sierras	
1	130.8	30.4	44.4	8.6	86.4	8	10	delgado	grueso	presente	presente	ausente	ausente	ausente	
2	153.3	38.2	56.5	11.7	103.5	8	10	delgado	grueso	presente	presente	ausente	ausente	ausente	
3	132.1	30.6	46.5	9.4	89.7	8	10	delgado	grueso	presente	presente	ausente	ausente	ausente	
4	127.5	30.4	40.6	9	88.4	7	9	delgado	grueso	presente	presente	ausente	ausente	ausente	
5	134.1	30.5	46.7	9.8	88.9	8	10	delgado	grueso	presente	presente	ausente	ausente	ausente	
6	104.8	25.6	35.7	7.7	70.6	7	10	delgado	grueso	presente	presente	ausente	ausente	ausente	
7	82.4	20.3	30.3	5.6	58.9	7	9	delgado	grueso	presente	presente	ausente	ausente	ausente	
8	104.8	25.1	36	7.6	72.1	7	9	delgado	grueso	presente	presente	ausente	ausente	ausente	
9	133.1	30	43.7	8.8	89.7	7	9	delgado	grueso	presente	presente	ausente	ausente	ausente	
10	127.5	28.3	43.6	8.8	87.8	7	9	delgado	grueso	presente	presente	ausente	ausente	ausente	

Longitud estandar (LS), Longitud de la cabeza (LC), Longitud predorsal (LPd), Longitud interorbital (Liorb), Longitud preanal (LPanel), Longitud superior (Lsup), Longitud inferior (Linf).
 Protocolo Tomado de: Ferraris, (2007)

CUADRO N° 03: Morfología externa de *Rhamdia* sp. "bagre" del río Pongora, Ayacucho 2010.

Cabeza		De Holor Postlar
Cabeza		Deprimida, ¼ a más veces en la longitud total
Boca		Terminal y subigual, maxilar más larga, contenida 2.5 veces en la longitud de la cabeza
Branquias		Estrechas, se extienden hasta los márgenes laterales de la cabeza
Dientes		Viliformes
Proceso occipital		Corto, separado del escudo predorsal
Ojos		Con margen libre, bien separados entre sí
Distancia interorbital		corresponde a más del 50% del ancho de la cabeza y casi el 60% de la longitud de la misma
Fontanela		Corta
Barbilla maxilar		Larga, alcanza la aleta dorsal y ventral
Barbilla externa	mentoniano	Corta, alcanzan el extremo de la aleta pectoral
Barbilla interna	mentoniano	Cortos, alcanzan las aberturas branquiales
Aleta pectoral		Con espina aserrada y 12 radios (P ₁ ,1,10)
Aleta dorsal		Con una espina y 8 radios (D.1,8)
Aleta adiposa		Ancha y baja, de 3.5 a 4 veces en la longitud total
Aleta pélvica		Con espina rudimentaria y 5 radios (P ₂ ,1,5)
Aleta anal		Con 11 a 12 radios (A11 a 12)
Aleta caudal		Homocerca con lóbulos iguales redondeados y radios blandos
Altura del Cuerpo		1/5 veces en la longitud total
Línea lateral		Fina y oscura, desde de la parte superior del opérculo al inicio de la aleta caudal, divide las bandas en igual proporción (superior e inferior).

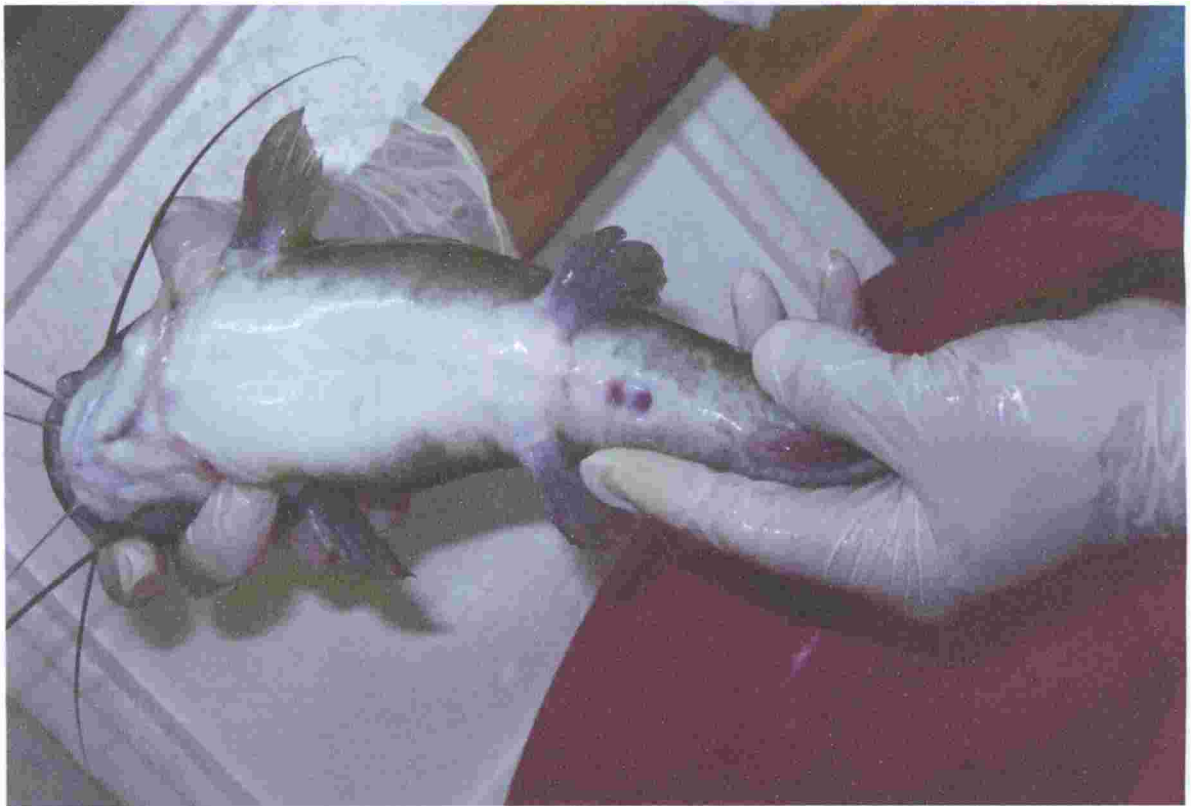
CUADRO N° 04: Morfometría de *Rhamdia* sp “bagre” del río Pongora, Ayacucho
2010.

Distancia	Mínima	Máxima	Promedio
Longitud estándar (mm)	82.4	153.3	123.04 ± 5.3
Longitud de la cabeza (% de LS)	30.74	38.2	35.88 ± 1.9
Ancho del cuerpo (% LC)	70.5	99.51	85.0 ± 5.8
Distancia interorbital (% LC)	21.9	11.8	33.6 ± 3.4
Longitud de la boca (% LC)	25.8	41.4	33.6 ± 2.3
Longitud de la barbilla maxilar (% LS)	48.8	99.22	74 ± 18
Longitud de la barbilla mandibular externa (% LS)	33.4	68.21	50.8 ± 6.9
Longitud de la aleta adiposa (% LS)	23.0	53.2	38.0 ± 3.4
Longitud del pedúnculo caudal (% LS)	14.1	22.7	18.4 ± 1.3
Distancia final entre aleta pectoral-dorsal (% LC)	63.7	104.7	84.2 ± 6.7
Longitud de la aleta pélvica (% LS)	29.7	39.4	9.7 ± 4.8
Base de la aleta pélvica (% LS)	20.8	31.6	4.2 ± 0.5
Posición final de la aleta anal (% LS)	-3.5	-4.5	-1.0 ± 0.9

Adecuado al protocolo de: Silfvergrip, (1996); Perdices, (2002); Reis y col (2003); y Ferraris, (2007).



FOTRAFIA Nº 01: *Rhamdia* sp “bagre” del río Pongora mostrando características morfológicas completas, Ayacucho 2010.



FOTOGRAFIA N° 02: *Rhamdia sp* "bague" del río Pongora que muestra la base de la aleta pélvica más ancha, Ayacucho 2010.

CUADRO N° 05: Morfometría de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824)

	Distancia	Minima	Máxima	Promedio
Longitud estándar (mm)		17.8	387.0	125.2±53
Longitud de la cabeza (% de LS)		17.8	28.9	23.2±1.9
Ancho del cuerpo(% LC)		70.5	102	85.0±5.8
Distancia interorbital (% LC)		21.9	46.7	33.6±3.4
Longitud de la boca (% LC)		25.8	41.0	33.6±2.3
Longitud de la barbilla maxilar (% LS)		28.8	137	74.0±18
Longitud de la barbilla mandibular externa (% LS)		13.4	53.9	30.8±6.9
Longitud de la aleta adiposa(% LS)		23.0	46.8	38.0±3.4
Distancia final entre aleta pectoral-dorsal (% LC)		63.7	104.3	84.2±6.7
Longitud de la aleta pélvica (% LS)		22.7	35.2	12.5±6.8
Base de la aleta pélvica (% LS)		10.3	21.2	10.7± 1.0
Posición final de la aleta anal (% LS)		1.5	3.5	2.5±0.9
Longitud del pedúnculo caudal (% LS)		11.1	19.7	16.4±1.3
Altura del pedúnculo caudal (% LS)		34.7	89.4	60.7±7.7

Fuente: Ringuelet (1975). Silfvergrip (1996); Perdices (2002); Reis y col. (2003); y Ferraris (2007).

RESULTADOS DE ESTUDIOS MOLECULARES:

La región COI utilizado representó un segmento amplificado de 685 pares de bases. Finalmente, alineadas y revisadas las secuencias con el programa Sequencher™ fueron entregados los resultados consolidados bajo archivos: 15 secuencias nucleotídicas individuales y 02 árboles de dendograma de comparaciones, de un total de 20 muestras enviadas, quedando eliminadas 05 por pruebas preliminares y contaminación.

Cada secuencia se comparó contra todas las secuencias de la base de datos del GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), perteneciente al NIH (National Institute of Health) donde se guarda una colección de todas las secuencias de DNA disponibles y públicas. Para esto se utilizó el formato BLAST obteniéndose los mejores segmentos alineados (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). Lo mismo se hizo para las comparaciones de secuencias con la base de datos nucleotídicas del BARCODE (www.bolsystem.org/.../idsingleresult.php/).

GRÁFICO N° 01: Secuencia de nucleótidos del ADN mitocondrial de *Rhamdia sp* “bagre” del río Pongora, de la muestra (h11) mostrando 685 pares de bases, Ayacucho Perú 2010.

```

TACCGTGTGACATCAAGCCGGTGAATATTCGAACCAACCCATAAAGACATTC
GCACCCCTTATTTAGTATTTGGTGGTTGAGCCCGCAATAGTTGGAACAGGT
GTGACCCGTATTTAAATCCGGCCGACGCTGGCCCAACCTGCCAGGCTGTCCGTGGC
CCAGCACCAGATTTATAATGTTATTTGTTACTGGTTCATCCCTTCCGTAAATAA
TTTCCTTATAGTAAATACCCATTTATCATTCCTAGGGTTTCCAAAGTGCAGTT
GTACCCGTAAATGATTCGTCCCCAGACATGGCCCTCCCCCGCAATAAATAA
CATGACCCCTTTCAGCTGCCCTCCCCCATCATTCCTGCCCTTCTAGCTTCCCTCAT
GTGGCCGTAGAAGCAGGGGTTGGGACAAGGCTCAAAGTGTGTTACCCAGCTGTCT
CCTCCAAACCTCCCAATGCGTCCGGCCCTCTGTAGACCTTCCCATCTTCTC
CCTCCATCTTCCAGGGGTATCCTCCATTTCTAGCCGGCTATTTAATTTATTA
CAACCAATTAATACATGAAACCCCCCGGTATGTTCACAATACCAAAACGGCC
GTATTTGTATCCGGTATTTAAATACAGCAATAGTTCTTGTAGTGTCCCT
TCCAGTCCCTACCTCCTGCTATTTACAATAATTAATAACAGACCCGAAACCTAA
ACAGCCACCTTCTTTCAGCCAGCAGGAGGAGGCTGATC
    
```

Proporcionada por: Hrbek Lab of Animal Genetics and Evolution, University of Puerto Rico, San Juan Puerto Rico.

GRÁFICO N° 02: Obtención de secuencias de nucleótidos de una especie similar a la *Rhamdia* sp. de la base de datos del GenBank, Perú 2011.

NCBI Resources HowTo

Nucleotide

[Link's Advanced](#)

[Display Settings:](#) FASTA [Send:](#)

Siluriformes sp. BOLD:AAA6323 voucher LBP-37163 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial

GenBank: GU689023.1

[GenBank](#) [Graphics](#)


```
>gi|296797649|gb|GU689023.1| Siluriformes sp. BOLD:AAA6323 voucher LBP-37163
cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial
CACCCCTAATTTAG TATTTGGTCTTGAGCCGAAATGGTCCG-GACAGCCCTAAGCCTACTAATTCGGGCG
GAGCTGGCCCAACCTGAGCTCTCTGGGCGACGACCAGATTTATAATGITAATGTAAGTCTGCTCATGCCT
TCGTAAATAATTTCTTTAATAGTAATACCCAITAATGATGGGGGTTTGGAACTGACTTGTACCGCTAAT
GATGGTGCCCCAGACATGGCCTTCCCCGAATAAATAACATGAGCTTTTGAAGCTTCCCCCATCAITC
CTTCTCCTACTTGCCTCACTGGCGTAGAAGCAGGGGTGGGACAGGCTGAACTGTTTACCCACCTCTG
CTGGAACCTGACCAATGCTGGGCTCTGTAGACCTTGCCATCTTCCCTCCAICTGCGAGGATC
CTCCATCTAGGGCAATTAATTTAATTAACCAATTAATAACATGAAGCCCCCGCTATCTCCCAATAC
CAAAAGCCCTAATTTGATGAGCCATTTTGATTACAGCAGTCTTCTACTAATCCCTCCAGTCTAG
CTGCTGATTAACAATACTACTAACAGACCGAAACCTAAACACCACCTTCTTGAACCCAGCAGGAGG
TGACCCCAATCTCTATCACACCTAATC
```

CUADRO N° 06: Comparación de secuencias nucleotídicas del ADN mitocondrial similares a la secuencia de *Rhamdia sp* utilizando NCBI-BLAST, Perú 2011.

BLASTn

Sequences producing significant alignments:						
Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
GU699023.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6323 voucher LBP-37163 cytochrome oxidase	1057	1057	92%	0.0	96%
GU699024.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6323 voucher LBP-37162 cytochrome oxidase	1057	1057	92%	0.0	96%
GU699025.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6323 voucher LBP-37161 cytochrome oxidase	1057	1057	92%	0.0	96%
GU699027.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6323 voucher LBP-37159 cytochrome oxidase	1057	1057	92%	0.0	96%
GU701137.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6323 voucher LBP-35582 cytochrome oxidase	1051	1051	92%	0.0	96%
GU701120.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6323 voucher LBP-35739 cytochrome oxidase	1051	1051	92%	0.0	96%
GU701118.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6323 voucher LBP-35588 cytochrome oxidase	1051	1051	92%	0.0	96%
GU701131.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6323 voucher LBP-35504 cytochrome oxidase	1046	1046	92%	0.0	96%
GU701130.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6323 voucher LBP-35797 cytochrome oxidase	1046	1046	92%	0.0	96%
GU701120.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6323 voucher LBP-35501 cytochrome oxidase	1046	1046	92%	0.0	96%
GU702224.1	Rhamdia quelen voucher LBP-29357 cytochrome oxidase subunit 1 (C)	1033	1033	92%	0.0	96%
GU702119.1	Rhamdia quelen voucher LBP-29359 cytochrome oxidase subunit 1 (C)	1033	1033	92%	0.0	96%
GU702176.1	Rhamdia quelen voucher LBP-29358 cytochrome oxidase subunit 1 (C)	1031	1031	91%	0.0	96%
FU179594.1	Rhamdia quelen voucher LBP623 cytochrome oxidase subunit 1 (COI)	1029	1020	99%	0.0	93%
FU179596.1	Microglanis aff. cottoides LBP731 cytochrome oxidase subunit 1 (COI)	1029	1020	99%	0.0	93%
FU074579.1	Rhamdia sapo isolate FARG317-07 cytochrome oxidase subunit 1 (COI)	1018	1018	91%	0.0	96%
GU702223.1	Rhamdia quelen voucher LBP-29356 cytochrome oxidase subunit 1 (C)	1002	1002	89%	0.0	96%
GU701541.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6322 voucher LBP-35805 cytochrome oxidase	994	994	92%	0.0	95%
HM404951.1	Rhamdia quelen voucher DCC01188 cytochrome oxidase subunit 1 (C)	989	989	92%	0.0	94%
HM404951.1	Rhamdia quelen voucher DCC4326 cytochrome oxidase subunit 1 (COI)	989	989	92%	0.0	94%
GU701543.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6322 voucher LBP-35807 cytochrome oxidase	989	989	92%	0.0	94%
HM404940.1	Rhamdia quelen voucher DCC31594 cytochrome oxidase subunit 1 (C)	983	983	91%	0.0	94%
HM404911.1	Rhamdia quelen voucher DCC31616 cytochrome oxidase subunit 1 (C)	983	983	92%	0.0	94%
GU702117.1	Rhamdia quelen voucher LBP-29360 cytochrome oxidase subunit 1 (C)	983	983	87%	0.0	96%
GU701541.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6322 voucher LBP-35806 cytochrome oxidase	983	983	92%	0.0	94%
GU702071.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6316 voucher MXIII269 cytochrome oxidase	878	878	92%	0.0	91%
GU702003.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6316 voucher MXIII271 cytochrome oxidase	878	878	92%	0.0	91%
GU702006.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6316 voucher MXIII268 cytochrome oxidase	872	872	92%	0.0	91%
GU702003.1	Siluriformes sp. BOLD:AAA6316 voucher MXIII281 cytochrome oxidase	872	872	92%	0.0	91%
FU751956.1	Rhamdia guatemalensis voucher MX241 cytochrome oxidase subunit 1	872	872	92%	0.0	91%

CUADRO N° 07: Registro de la secuencia nucleotídica del ADN mitocondrial de *Rhamdia sp* "Bagre" del río Pongora en BOLD, 2011.



***Rhamdia quelen* (RQPER)**

Barcode Identifiers

Barcode ID: RQPER015-11

Identified As: *Rhamdia quelen*

Sample ID: RQ511

COI-5P

Marker: COI-5P

Last Updated: 2011-08-01

GenBank Accession: Vertebrate Mitochondrial

Translation Matrix:

Sequencing Runs

Run Date: Run Site: Direction: Trace File:

PCR primers: Seq Primer:

[View Trace Files](#) [Download](#)

Nucleotide Sequence

Residues: 685

Comp. A: 184

Comp. G: 134

Comp. C: 183

Comp. T: 204

Ambiguous : 0

[Clear Sequence](#)

Amino Acid Sequence


Residues: 241

Identify Sequence Using:


[Full Database](#) [Species Database](#) [Published DB](#) [Full Length DB](#)

TACTGTGACATCAGCCGCTGATTAATTCACCAACCAAAAGACATGGCACCTTAATTAAGTATTGGTGG
 TTGAGCCGGAAAGTGGACAGCTGTGAGCTTAATTCGGGGAGCTGGCCCACTGGAGCTCTCTGGG
 CGAGCCAGATTAATAGTAAATGTTACTGCTAGCTGCTGTAATTAATTAAGTAAATGCTGCTGCTG
 GATTGGAGGTGGAACTGACTGTGACCGTAATGATGGTGGCCAGACATGGCTTCCCGGAATAAATA
 CATGAGCTTTGACTGCTCCCAATCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
 AGCTGAATGTTAACCCACTTTCCTGGAACTGGACATGCTGGGCTGTAGACCTTGGCACTGCTC
 CCTCACTGGAGGGTAAGCTCAATCTAGGGGCTTAATTAATTAAGACATTAATTAAGACATTAAGAC
 CGCTAICTGCAATACCAACGCCCTTAATTAATTAAGACATTAATTAATTAAGACATTAATTAAGAC
 TCCAGTCTAGCTGGTATAGCAATTAATTAAGACATTAATTAAGACATTAATTAAGACATTAATTAAG
 GGAGGTGATC


TCDTRMLFSINHKOIGTLYVFGMAGAVGTALSLIRAEALQPGALLGDDQIYVIVTAHAFVMIFFKVPIM
 IGGTGNLVLPLMIGAPMAFPRNNMSPLLPSFLLLSAGVPEAGVGTWVYPLAGNLARAGASVDLAI
 LRLAGVSIILGAINFTIINNKFPALSQIGTFLFVALLITAVLLLSLFLVLAAGIIMLLTDRNLNITFLIQE
 EVI



320



641



684

CUADRO N° 08: COI SPECIES DATABASE Tree

BOLD Taxon ID Tree

Title	COI SPECIES DATABASE Tree
Date	20-February-2011
Data Type	Nucleotide
Distance Model	Kimura 2 Parameter
Codon Positions	1st,2nd,3rd
Labels	Extra Info, Process ID, Family,
Attachment	Photographs & Spreadsheet
Sequence count	100
Species count	10
Genus count	4
Family count	2
Unidentified	1

Matrícula generado por la base de datos del Barcode para secuencia específica de muestras (12-15) de *Rhamdia* sp "bagre" del río Pongora, título original en inglés que no debe ser cambiado. 2011.

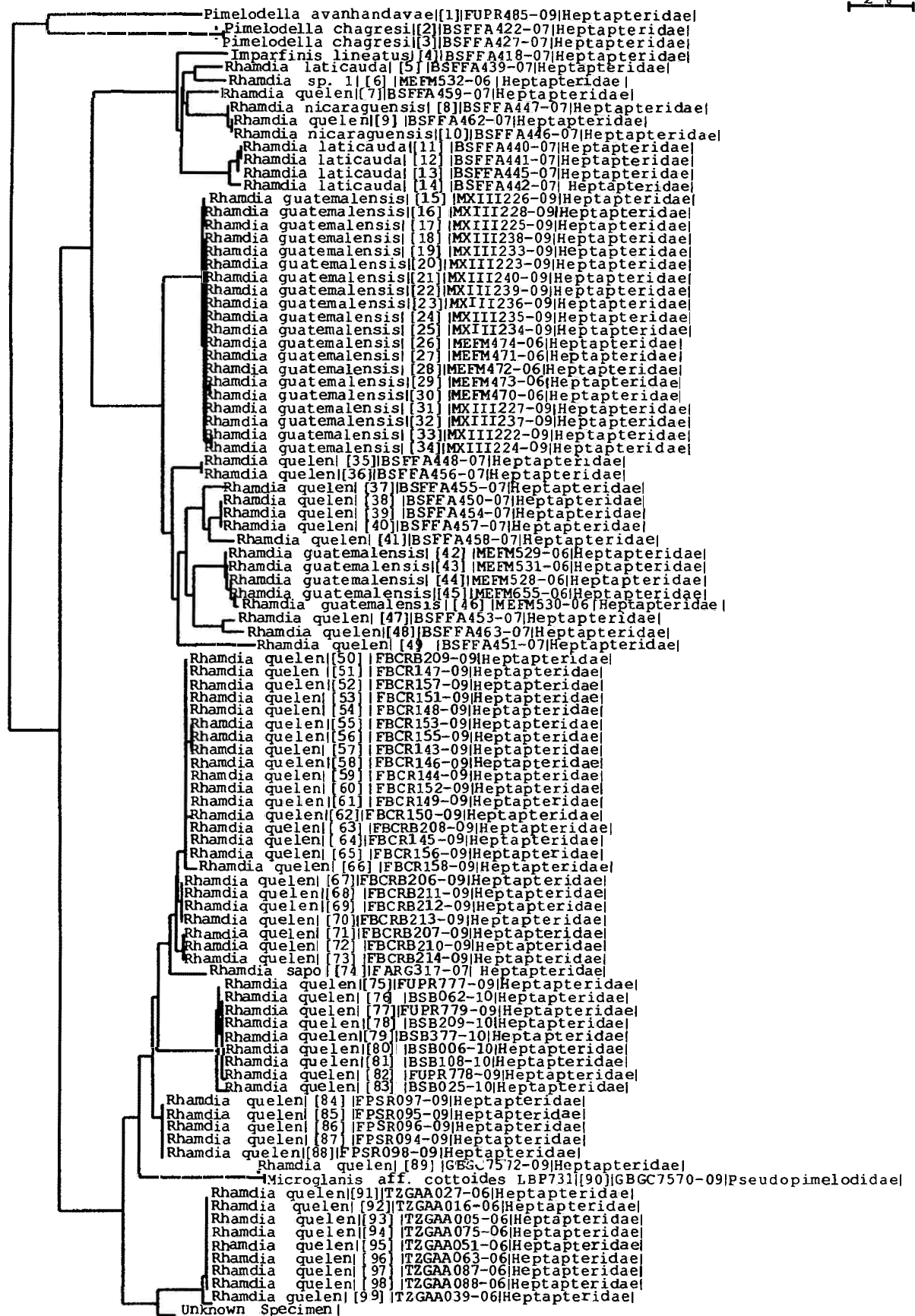


GRÁFICO Nº 03: Dendrograma de similitud del *Rhamdia* sp "bagre" del río Pongora y grupos cercanos, basados en el gen COI del ADN mitocondrial de las muestras (4-I, 6-I, 7-I, 9-I, 11b, 12b, 13b, 14b, 15b, 16b, 17b) usando modelo Kimura-2 Parámetros. Índice porcentual de 2%. Perú 2011.

CUADRO N° 09: Resultados al comparar con la COI FULL DATABASE del BOLD para *Rhamdia* sp “bagre” del río Pongora con 20 especies más cercanas de 100 similares basados en el gen COI del ADN mitocondrial de las muestras (4-l, 6-l, 7-l, 9-l, 11b, 12b, 13b, 14b, 15b, 16b, 17b). 2011.

22/10/2010 BOLD Systems - Identification Result PRINT | HELP

SYSTEMS Management & Analysis

Specimen Identification Request

Search Request:
Type: COI SPECIES DATABASE

Search Result:
Identification Summary:

Taxonomic Level	Taxon Assignment	Probability of Placement (%)
phylum	Chordata	100
class	Actinopterygii	100
order	Siluriformes	100
family	Heptapteridae	100
genus	Rhamdia	97.9

A species level match could not be made. The nearest neighbor is *Rhamdia* *quei*en.

TreeBasedIdentification

Distance Summary:

Similarity scores of the top 100 matches

TOP 20 Matches: Display option: default ▼

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Specimen Similarity (%)
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	97.93
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	97.93
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	97.93
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	97.93
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	97.93
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	97.93
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	97.93
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	97.93
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	97.93
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	97.46
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	96.84
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	96.84
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	96.84
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	96.84
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	96.84
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	96.84
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	96.68
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	96.68
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	96.68
Chordata	Actinopterygii	Siluriformes	Heptapteridae	Rhamdia	quei'en	96.68

GRÁFICO N° 04: Secuencia de nucleótidos del ADN mitocondrial de *Rhamdia sp* "bagre" del río Pongora, de la muestra (h4) mostrando 685 pares de bases, Ayacucho Perú 2010.

```

TACCGTGTGACAT,CACCGCGTGATTA,TTCTCAACCAACCA,AAAAGACATTG
GCACCCGTATTAGTATTCGTGC,TTGAGCCCGAATA,GTTCGAACAGCGT
GTGAGCCGTATTAATTCGGCGGAGCGT,GGCCCAACCGTGGAGCGTCTCGTGGC
CGACGACCA,GAATATAAT,GTATTCGTTACTGGT,CATGGCGTTCCGTAATAA
TTTCGTTA,TA,GTAA,TA,CCCA,TTAT,GA,TT,CGAG,GG,TT,CGAAA,GT,CAG,TT
GTACCGCGTAA,TCATTCGTGGCCCA,GA,CA,TCGGCGTTC,CCCCCGAATAAATAA
CATGAGCGTT,GA,GT,CG,TT,CCCCCA,TCATTCG,TCG,TT,GT,ACT,TT,CCGT,CAT
GTGGCGTAGAAGCA,CGCGTT,GGCA,CA,CGCGTGA,ACT,GT,TA,CCCA,CG,TC,TT
GGTGGAAACCGTGGCACAT,CGT,CGCGCGT,GTGTAGACCGTT,GGCAT,GT,TC,TC
CGTCCAT,GT,TC,AGCGCGTATCGT,CCA,TT,CGTACGGCGTATTAATTA,TTA
CAACCA,TTA,TTA,AGAT,GA,AA,CCCCCGGTAT,GT,CA,CA,AT,AG,CA,AA,CG,CCC
GTATTCGAT,CGCGTAT,TTAA,TTACAGCA,GT,ACT,TT,GT,ACT,GT,CCGT
TCCAGTCCTAG,GT,CGT,CGTAT,TA,CA,ATA,TT,ACTA,ACA,CAC,CC,AA,AC,GTAA
ACACCACC,TT,CT,TT,CA,CCC,AG,CA,GG,AG,GGT,GAT,C

```

Proporcionada por: Hrbek Lab of Animal Genetics and Evolution, University of Puerto Rico, San Juan Puerto Rico.

CUADRO N° 10: COI SPECIES DATABASE Tree

BOLD Taxon ID Tree

Title	COI SPECIES DATABASE Tree
Date	20-February-2011
Data Type	Nucleotide
Distance Model	Kimura 2 Parameter
Codon Positions	1st, 2nd, 3rd
Labels	Extra Info, Process ID, Family,
Attachment	Photographs & Spreadsheet
Sequence Count	100
Species count	10
Genus count	4
Family count	2
Unidentified	1

Matrícula generado por la base de datos del Barcode para secuencia específica de muestras (1-11) de *Rhamdia sp* "bagre" del río Pongora, título original en inglés que no debe ser cambiado. Perú 2011.

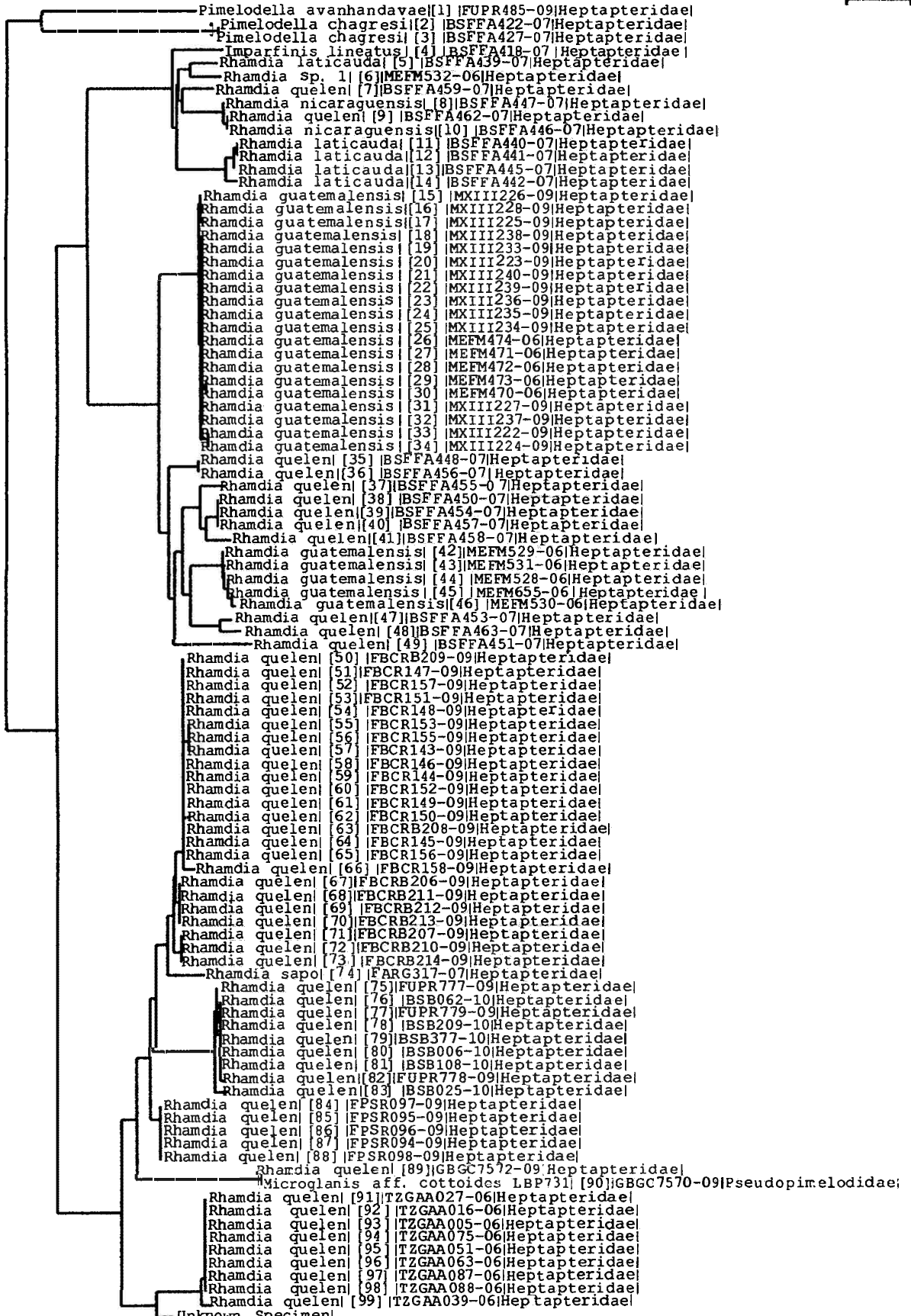


GRÁFICO Nº 05: Dendrograma de similitud del *Rhamdia* sp "bagre" del río Pongora y grupos cercanos, basados en el gen COI del ADN mitocondrial de las muestras (1-1, 2-1, 5b, 10b) usando modelo Kimura-2 Parámetros. Índice porcentual 2%. Ayacucho 2011.

CUADRO N° 11: Puntuación de valores porcentuales de *Rhania* sp “bagre” del río Pongora comparado con 20 especies más cercanas de 100 similares basados en el gen COI del ADN mitocondrial de las muestras (1-l, 2-l, 5b, 10b) Perú 2011.

22/10/2010
BOLD Systems - Identification Result

[PRINT](#) | [HELP](#)

SYSTEMS Management & Analysis

Specimen Identification Request

Search Request:
 Type: COI SPECIES DATABASE

Search Result:
Identification Summary:

Taxonomic Level	Taxon Assignment	Probability of Placement (%)
phylum	Chordata	100
class	Acthopterygi	100
order	Sturformes	100
family	Heptapteridae	100
genus	Rhania	98.1

As species level match could not be made, The nearest neighbor is *Rhania quelen*.

Tree Based Identification

Distance Summary:

Similarity scores of the top 100 matches

TOP 20 Matches: Display option: default ▼

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Specimen Similarity (%)
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	98.09
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	98.09
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	98.09
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	98.09
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	98.09
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	98.09
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	98.09
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	98.09
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	98.09
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	97.62
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	96.84
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	96.84
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	96.84
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	96.84
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	96.84
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	96.84
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	96.68
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	96.68
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	96.68
Chordata	Acthopterygi	Sturformes	Heptapteridae	Rhania	quelen	96.68

CUADRO N° 12: Búsqueda de resultados en el Catálogo FISH-BOL para peces Rhamdia de Sudamérica, en el cual no aparece la especie *Rhamdia sp* del río Pongora de Ayacucho. 2011.

FISH-BOL
Fish Barcode of Life Initiative

Home | Vision | People | Progress | Checklists | News & Updates | Links | Publications | SharkBOL

Species Images

Home > Checklists > Species Images

All Fishes: Images of *Rhamdia quelen*

Search

↔ || Styles A A

Taxonomy **Map**

Class: Actinopterygii
Order: Siluriformes
Family: Heptapteridae
Subfamily: Unassigned Heptapteridae subfamily
Genus: *Rhamdia*
Species: *quelen* (Quoy & Gaimard, 1824)
Type Locality:
[Link to species page in Fishbase.](#)

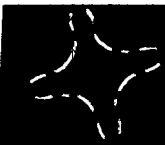
Images: 20071 | Date de mapa: 2011 | Términos de uso

The markers show the 5 sample collection points for this species

Species Sections

- All Fishes
- Actinopterygii
- Siluriformes
- Heptapteridae
- Unassigned Heptapteridae subfamily
- Rhamdia*

CUADRO N° 13: Búsqueda de resultados en el Catálogo de la Academia de Ciencias de California (CAS) para peces Rhamdia de Sudamérica en el cual no aparece la especie *Rhamdia* sp del río Pongora de Ayacucho, 2011.



Research

CAS • Research • Ichthyology • Catalog of Fishes

Online Version, Updated 14 July 2011

Search the Online Catalog | Species by Family/Subfamily | Guide to Fish Collections | Journals in the Catalog |

SEARCH RESULTS FROM THE *Catalog of Fishes*

Select the database to search:

GENERA SPECIES REFERENCES

rhamdia quelen

parahybae, *Pimelodus* (*Rhamdia*) Steindachner [F.] 1877:615 [57] [Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe v. 74 (1. Abth.); ref. 4224] Rio Parahyba, southeastern Brazil. Syntypes: (several) BMNH 1891.3.16.36-45 (10?), 1891.3.16.106 (1); NMW 45852. Type catalog: Ferraris 2007:201 [ref. 29155]. On p. 57 of separate. Silfvergrip 1996:146 [ref. 22347] says holotype is NMW 45852 (does not constitute lectotype designation). *Synonym of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824) -- (Silfvergrip 1996:96 [ref. 22347], Bockmann & Guazzelli in Reis et al. 2003:424 [ref. 27061], with NMW as holotype, Ferraris 2007:201 [ref. 29155]). Current status: Synonym of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824). Heptapteridae. Habitat: freshwater.

pentlandii, *Pimelodus* Valenciennes [A.] in Cuvier & Valenciennes 1840:183, Pl. 435 [Histoire naturelle des poissons. v. 15; ref. 1008] Rio Apurimac, Peru. Lectotype: BMNH 1862.11.15.11 (221.0 mm SL, smaller spec.). Paralectotypes: BMNH 1862.11.15.11 (1). Type catalog: Ferraris 2007:200 [ref. 29155]. Lectotype designated by Silfvergrip 1996:14, 139 [ref. 22347]. *Valid as *Rhamdia pentlandii* (Valenciennes 1840) -- (Ortega & Vari 1986:15 [ref. 9708], Burgess 1989:279 [ref. 12860]). *Synonym of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824) -- (Silfvergrip 1996:96 [ref. 22347], Bockmann & Guazzelli in Reis et al. 2003:424 [ref. 27061], Ferraris 2007:200 [ref. 29155]). Current status: Synonym of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824). Heptapteridae. Habitat: freshwater.

pubescens, *Rhamdia* Miranda Ribeiro [A. de] 1920:11, Unnum. Pls. 6-7 [Comissão de Linhas Telegraficas Estrategicas de Matto-Grosso ao Amazonas. No. 58 (Anexo 5); ref. 3727] Urucum, near Corumbá, Mato Grosso State, Brazil. Lectotype: MNRJ 925A. Paralectotypes: MNRJ 925 (4). Type catalog: Miranda Ribeiro 1953:404 [ref. 12732], Ferraris 2007:201 [ref. 29155]. Lectotype designated by Miranda Ribeiro 1953:404 [ref. 12732] [but perhaps specimen not isolated]. Lectotype also selected by Silfvergrip 1996:34, 139 [ref. 22347] as 180.3 mm SL specimen. *Valid as *Rhamdia pubescens* Miranda Ribeiro 1920 -- (Burgess 1989:279 [ref. 12860]). *Mention -- (Britski et al. 1998:98 [ref. 24147]). *Synonym of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824) -- (Silfvergrip 1996:96 [ref. 22347], Bockmann & Guazzelli in Reis et al. 2003:425 [ref. 27061], Ferraris 2007:201 [ref. 29155]). Current status: Synonym of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824). Heptapteridae. Habitat: freshwater.

quadrinaculatus, *Silurus* Bloch [M. E.] 1794:37, Pl. 368 (fig. 2) [Naturgeschichte der Ausländischen Fische. v. 8; ref. 463] America [South America]. Holotype (unique): ZMB 2944 (probably lost). Type catalog: Type catalog: Silfvergrip & Paepke 1997:172 [ref. 24006], Ferraris 2007:200 [ref. 29155] On p. 28 of Bloch's Ichthyologie, v. 11 [ref. 21381]. *Valid as *Pimelodus quadrinaculatus* (Bloch 1794) -- (Burgess 1989:280 [ref. 12860]). *Questionably the same as *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824) -- (Silfvergrip 1996:95 [ref. 22347], Bockmann & Guazzelli in Reis et al. 2003:424 [ref. 27061], Ferraris 2007:200 [ref. 29155]). Current status: Uncertain as *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824). Heptapteridae. Habitat: freshwater.

quelen, *Pimelodus* Quoy [J. R. C.] & Gaimard [J. P.] 1824:228, Pl. 49 (figs. 3-4) [Description des Poissons. Chapter IX. In: Freycinet, L. de, Voyage autour du Monde...; ref. 3574] Between Caño Pastos and Hamburgo, tributary to Rio Samiria, Depto. Loreto, Peru. Neotype: NRM 16091. Type catalog: Ferraris 2007:200 [ref. 29155]. Neotype designated by Silfvergrip 1996:97, 139 [ref. 22347]; Silfvergrip selected the same neotype for other species making them objective synonyms of *quelen*. *Mention -- (Malabarba 1989:144 [ref. 14217], Britski et al. 1998:98 [ref. 24147]). *Valid as *Pimelodus quelen* (Quoy & Gaimard 1824) -- (Mees 1986:319 [ref. 5693], Ortega & Vari 1986:15 [ref. 9708], Burgess 1989:279 [ref. 12860], Silfvergrip 1996:95 [ref. 22347], Castro & Casatti 1997:342 [ref. 23333], Torelli et al. 1997:70 [ref. 24612], Casatti & Castro 1998:232 [ref. 23663], Sverlij et al. 1998:58 [ref. 27632], Fuller et al. 1999:217 [ref. 25838], Le Bail et al. 2000:144 [ref. 24549], Lasso et al. 2001:99 [ref. 25928], Casatti et al. 2001:5 [ref. 25929], Romero & Paulson 2001:27 [ref. 26040], Miquelarena et al. 2002:78 [ref. 26517], López et al. 2002:63 [ref. 26808], Bockmann & Guazzelli in Reis et al. 2003:424 [ref. 27061], López et al. 2003:63 [ref. 27366], Casciotta et al. 2003:139 [ref. 28130], Menni 2004:83 [ref. 28131], Bichuette & Trajano 2005:593 [ref. 28555], Ferraris 2007:199-200 [ref. 29155]). Current status: Valid as *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824). Heptapteridae. Distribution: Widespread in South America, from Mexico to Argentina. Habitat: freshwater.

riojae, *Rhamdia* Fowler [H. W.] 1915:209, Fig. 2 [Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia v. 67; ref. 1392] Rioja, near Moyabamba and Baka Puerto, on or near the lower course of Rio Huallaga, Peru. Holotype: ANSP 21101. Type catalog: Böhlke 1984:142 [ref. 13621], Ferraris 2007:201 [ref. 29155]. *Valid as *Rhamdia riojae* Fowler 1915 -- (Ortega & Vari 1986:15 [ref. 9708], Burgess 1989:279 [ref. 12860]). *Synonym of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824) -- (Silfvergrip 1996:96 [ref. 22347], Bockmann & Guazzelli in Reis et al. 2003:425 [ref. 27061], Ferraris 2007:201 [ref. 29155]). Current status: Synonym of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824). Heptapteridae. Habitat: freshwater.

TAXONOMIA ACTUAL PARA *Rhamdia sp* DE AYACUCHO:

- Reino : Animal
- Phylum : Chordata
- Subphylum : Vertebrata
- Serie : Pisces
- Superclase : Gnathostomata
- Clase : Osteichthyes
- Subclase : Actinopterygii
- Superorden : Ostariophysi
- Orden : Siluriformes
- Suborden : Siluroidei (Nematognathina)
- Familia : Heptapteridae
- Género : *Rhamdia*
- Especie : *Rhamdia sp* (indeterminado)

Clasificación taxonómica hasta Género según Quoy y Gaimard, 1824; disponibles en la base taxonómica de FISH-BOL (2011); California Academy of Sciences (2011); Fish-Base (2011).

V. DISCUSIÓN

Debido a que los datos morfológicos de este trabajo se basan directamente en observaciones y cálculos merísticos y morfométricos, la *Rhamdia sp* “bagre” del río Pongora previamente muestran soportes similares que encuadra dentro de la descripción original de la *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard 1824-, citadas en las literaturas de: Silfvergrip (1996); Perdices (2002); Reis y colaboradores (2003) y Ferraris (2007). Esto está asociado a la escasa resolución en ambas especies, donde cualquier esquema intergenérico parece factible (ver fotografía N° 01).

Los resultados de los datos morfométricos y merísticos en los peces *Rhamdia sp* “bagre” del río Pongora mostrados en los cuadros N° 02, 03 y 04, Reveló que la longitud estándar (Ls) máxima (talla) está a nivel de los 153 mm, aunque por versiones de lugareños superan los 300 mm. A nivel de las aletas dorsal, pectoral, pélvica y anal, presenta una ligera dificultad en la diferenciación de los radios por el recubrimiento de piel que presentan estas aletas: Caracteres (+1 ó -1) de número de radios en la longitud superior e inferior (Lsup/Linf). Estas particularidades fluctuantes también están dentro del rango establecido para *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard 1824- (cuadro N° 05). Por lo general no resalta variabilidad en la constitución, posición y función de las aletas. La única diferencia importante encontrada es la variación en la base de las aletas pélvicas

que es más ancha, y que no se encuentra muy aclarada en la *Rhamdia quelen* - Quoy y Gaimard 1824- (Cuadro Nº 04 y Fotografía Nº 02). Esta particularidad casi única no es significativa que pueda determinar la separación de la especie de los parámetros establecidos para la *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard 1824- que representa una variación proporcional de solo 1.5%, sobre la base del total.

La variación en la base de las aletas pélvicas, se considera que es una consecuencia relacionada con la posición geográfica muy particular que ha seccionado en una tasa de divergencia evolutiva regional única, donde la velocidad de la corriente y el fondo arenoso rocoso en todo el curso del río Pongora determinaron el desarrollo de extremidades como la base de las aletas pélvicas para contrarrestar la velocidad de las aguas y viajar a contracorriente en periodos de reproducción y en caso de alevinos y juveniles evitar ser arrastrados río abajo a mayores distancias de su ambiente establecido ya que la conducta primordial de estas especies es la territorialidad como afirma Andrade y Machado (2009), a los que también pueden sumarse factores como la presión altitudinal y la temperatura que puede inducir en un "haplotipo", único de su origen basal y para su determinación exacta compromete la habilidad de ciertos métodos reconstructivos para determinar adecuadamente las relaciones genealógicas entre secuencias, tal como especifica Betancur (2003) en una tesis doctoral: "Un grupo regional siempre acentúa peculiares atributos aunque no muy significantes (principalmente aletas y alimentación)". Así podría explicarse que las estructuras morfológicas y la talla máxima de desarrollo como un indicativo primordial, apoyado en el comportamiento alimentario y el factor altitudinal, al influir en la temperatura del ambiente y del agua de procedencia para esta especie, condicionan directamente su permanencia, longevidad y su ciclo de vida (Buitrago, 2006), debiendo confirmarse con los estudios históricos y filogeográficos. La caracterización interna como el índice intestinal y la relación

con la longitud estándar (LI/LE) y los estudios de osteología para la especie ya no se efectuaron por que la caracterización molecular es la que asigna en definitiva su ubicación dentro de un taxón.

Las evidencias de relación morfológica resuelve su fácil inclusión dentro de la *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard 1824-. Pero la tarea de determinar los patrones de inclusión como nueva especie no es simple, a pesar de tratarse de una población autóctona. Sin embargo, las escasas diferencias impiden fijar cualquier conclusión en este sentido. La situación parece más complicada dada la contundente evidencia mitocondrial de la *Rhamdia sp* que es discrepante de la *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard 1824- (cuadros N° 04 y 05).

Respecto a los análisis moleculares tenemos, al superarse la primera barrera en la obtención y secuenciamiento de nucleótido del gen COI del ADN mitocondrial, el resultado representó un segmento razonable de 685 pares de bases, obtenidas de *Rhamdia sp* bagre del río Pongora. Cada una de las 15 secuencias nucleotídicas se comparó con las secuencias nucleotídicas de peces bagres de la base de datos del GenBank utilizando la herramienta "Blast" para corregir las zonas "Gaps" y hacer las mejores alineaciones que permitió identificar la especie incógnita (gráficos N° 01 y 04).

La secuencia que se observa en los gráficos N° 01 y 04, corresponde a la secuencia de nucleótidos del ADN mitocondrial de las muestras h11 y h4 (todas hembras) de *Rhamdia sp* "bagre" de Ayacucho, esta se inicia con una sola línea conteniendo la información de la secuencia:

```
GAAGGTCCTGTGGCGGTTCGTTCGCGCCGGCCGTGTCACCGCCATGGGTGGCCCGT  
GTTTGGTGAGGAAAG  
GACGAGCCGGCCGGCGTGAACGTTAAAGGAGGAGCGACGTGGCGTGGGTGGC
```

Esta información genética corresponde únicamente a esta especie y la lectura de las secuencias no muestran variabilidad entre los individuos debido a que el ADN mitocondrial es muy conservada y de herencia únicamente materna.

La secuencia que se observa en el gráfico N° 02 corresponde a una secuencia nucleotídica de una especie de bagre el cual contiene un código de acceso y un voucher de origen, esto significa que está disponible en la base de datos del Genbank, requisito que nos falta generar para nuestra especie incógnita.

El formato BLASTn que se observa en el cuadro N° 06 corresponde a las secuencias de nucleótidos (COI del ADN mitocondrial) de especies similares de bagres depositados en el Genbank que se obtiene una vez hecho el ingreso de nuestra secuencia incógnita y BLAST realiza el alineamiento mostrando al final las secuencias de las especies mejor alineadas con código de acceso, porcentaje de cobertura sobre nuestra secuencia incógnita, valor de probabilidad y máxima identidad (igualdad en las bases) en porcentaje de similitud. Estas combinaciones únicas han permitido identificar el vecino más próximo a nuestra secuencia problema, calculando las distancias de divergencias en un ranking comparativo del 2.0% con respecto a las secuencias mitocondriales de *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard 1824- y en 4% con las secuencias de *Siluriformes sp.*

Para la comparación de secuencias nucleotídicas (COI) por el Código de barras también se utilizó la herramienta BLASTn para hacer las alineaciones con las secuencias de especies mejor alineadas como se observa en el cuadro N° 07. Aquí se muestra la secuencia incógnita sin código de acceso ni voucher, esto es la primera razón que indica especie no reconocida. En la parte inferior se muestra una banda de colores numerados del cero hasta 685 que corresponden a la secuencia de nucleótidos de la muestra incógnita, esta es la expresión gráfica de los nucleótidos del gen COI del ADN mitocondrial y lo que resalta es la

ausencia de códigos numéricos en la parte inferior de esta banda debido a que genéticamente el código es el mismo ADN generado por el BARCODE única y exclusivamente para esta especie *Rhamdia sp* "bagre" del río Pongora de Ayacucho, donde algunas de las líneas de colores no tiene coincidencia con otras bandas de secuencias nucleotídicas de *Rhamdia quelen* y la diferencia es 2%, segunda razón que demuestra ser una especie no registrada para la ciencia.

El BOLD System ID herramienta de análisis en sistemática y filogenia del BARCODE (cuadro N° 08) que expresa las relaciones taxonómicas, ayudaron en seguida a construir un árbol de distancias. Se eligió un árbol de dendograma disponible llamado Kimura-2 parámetros (K2P) donde indica las mutaciones (sustitución de nucleótidos) ocurren aleatoriamente. En el árbol de comparación de la especie *Rhamdia sp* (gráficos N° 03 y 05) se observa la formación de grupos bien definidos, los nodos anteriores contienen a la *Rhamdia quelen* - Quoy y Gaimard 1824- por grupos regionalmente afines con un patrón genético, mientras que el último nodo está formado por la *Rhamdia sp*, como incógnita no especifica mostrando las distancias de esta especie con relación a las demás anteriores. Las evidencias de comparaciones son de alta resolución a nivel específico (2.0% distancia) entre la especie incógnita (bagre de Ayacucho) y el grupo más próximo de peces *Rhamdia* (91-99/TZGAA) mostrado en los gráficos 03 y 05, pertenecientes a una región geográfica definida que cuenta con voucher y código de acceso que indica ser especie conocida. La aparición de un nuevo nodo al final del árbol (especie no conocida) demuestra la existencia de un nuevo grupo regional para la *Rhamdia sp*, pero con estrecha relación al grupo anterior, esto indica que las distancias genéticas de esta especie con las otras conocidas son del 2%. La monofilia de este grupo en relación con la *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard 1824- aún no es corroborada, aunque investigadores

en Sudamérica como Brasil, Argentina, Chile, Colombia, Venezuela y otros ya depositaron sus secuencias de ADN en el GenBank y otros tantos en Barcode.

Las secuencias de ADN de la *Rhamdia* sp fueron analizados enseguida mediante métodos de distancia de superposición porcentual (aproximaciones), estableciendo valores máximos de variación intraespecífica entre cada una de las 15 muestras de secuencias nucleotídicas, en la base "BOLD Systems" (Barcoding of life Data Systems) (cuadros 09 y 11). La secuencia incógnita de *Rhamdia* sp, indica que de 11 muestras comparadas con 100 secuencias más próximas de especies de *Rhamdia* con la superposición de secuencias similares, exhibió valores de similitud que alcanzaron puntuaciones porcentuales de 97.93% como la más próxima (cuadro Nº 09), todas correspondientes *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard 1824-, mientras que la secuencia de 04 muestras comparados también con 100 secuencias más próximas de *Rhamdia* con la superposición de secuencias similares exhibió valores de similitud porcentual de 98.09% como la más próxima (cuadro Nº 11), que corresponde también a *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard 1824-.

Los gráficos muestran el orden de comparaciones de las primeras 20 especies similares como las más preferentes. Aquí no existen valores de mayor significancia, más que a 97.93% - 98.09% y un nodo con mayor soporte (2% en promedio) esto indica que las distancias genéticas de la especie *Rhamdia* sp y las otras especies tienen en promedio 2%.

Esto cambia la perspectiva de similitud morfológica mostrado en los cuadros (02, 03, 04 y 05) entonces, los bagres del río Pongora son un grupo independiente local, sobrevivientes o de reciente especiación que podría haber sufrido cuellos de botella poblacionales, incrementando el grado de diferenciación de su ADN, ya que examinados correspondían a una sola matriz. Además, para asumir este

criterio se indagaron estudios relativos a los bagres *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard 1824-, basados en trabajos de ADN mitocondrial publicados de otras lugares de Sudamérica, cuyas propuestas taxonómicas fueran de consenso general entre los especialistas en ictiología, para incluir o discriminar la sinonimia, ya que esta especie que habita en el río Pongora catalogados como *Rhamdia sp* tiene validez únicamente en esta región del Perú, mas no está registrada en archivos de instancias internacionales de taxonomía especializada para el grupo de bagres neotropicales de Sudamérica.

La valoración de las pruebas es confiable, habiendo sido estandarizados y aprobados por investigadores del Genbank y el Barcode, que no admiten posibilidades de error. En este caso particular la inclusión de esta especie dentro de la *Rhamdia quelen* -Quoy y Gaimard 1824- tiene una barrera límite, puesto que los parámetros de los defensores del "DNA barcode" y el modelo de Kimura dos parámetros (K2P) han propuesto valores estimativos del 1- 2% de divergencia en el ADN mitocondrial para la variación intraespecífica y valores mayores de 2% para separar especies. Asimismo, los promedios de divergencia para géneros serían del 9.93%, para familias del 15.46%, para órdenes del 22.18% y para clases del 23.27%, como afirman Lanteri (2007); Tubaro y Díaz de Astarloa (2008). Además el código de barras genético se utiliza como herramienta complementaria que contribuye a descubrir e identificar la diversidad de organismos no detectadas morfológicamente, y no debe ser considerado de ninguna manera como un dogma que suprime otras herramientas. Según estos valores y las hipótesis de relaciones del bagre de Ayacucho indican al menos diferentes eventos de adaptación a las condiciones ecológicas. Sin embargo, la inclusión definitiva de este linaje (*Rhamdia sp*) como nueva especie dentro del género *Rhamdia* requiere de más estudios a nivel de ADN nuclear y estudios biogeográficos que revelen mayor soporte a los criterios taxonómicos.

VI. CONCLUSIONES

1. Según los resultados del secuenciamiento del gen COI de *Rhamdia sp* utilizados en la caracterización molecular, al ser contrastados con la base de datos del GenBank y el Barcode presenta una distancia divergente de 2% respecto a las secuencias mitocondriales del mismo gen de especies cercanas como la *Rhamdia quelen* que contradice a la caracterización morfológica, por lo que se considera como especie indefinida.
2. Se logró obtener secuencias nucleotídicas en un segmento razonable de 685 pares de bases (pb) del gen Citocromo Oxidasa sub unidad 1 (COI) del ADN mitocondrial de cada una de las quince muestras de *Rhamdia sp* "bagre" del río Pongora, lo que representa una cantidad superior al margen mínimo de 500 pares de bases de nucleótidos COI establecido por el Barcode para los estudios de identificación de especies.
3. La *Rhamdia sp* "bagre" del río Pongora por sus características morfométricas y merísticas encuadra dentro de la especie *Rhamdia quelen*, excepto, por la variación en la base de la aleta pélvica que es más ancha en la *Rhamdia sp*, pero no es relevante porque solo representa al 1.5% de la proporción total.

VII. RECOMENDACIONES

1. Para que la *Rhamdia* sp pueda ser considerada como una especie nueva, además de los estudios moleculares del gen mitocondrial (COI) y morfológicos, la tarea científica requiere de estudios a nivel del ADN nuclear y una reconstrucción de eventos Histórico-geográficos desde el origen de otros linajes basales e identificar eventos recientes de especiación (Filogenia) que evidencien su delimitación de otras especies (Biología) por ser complejos, solo así revelará el soporte para su inclusión definitiva en la taxonomía correspondiente.
2. Según los especialistas en estudios de la eficiencia del código de barras, para la delimitación de especies se deben analizar al menos 10 individuos por muestra poblacional, para evaluar convenientemente la variación de haplotipos a nivel intraespecífico.
3. Este estudio es el primero en evaluar el código de barras para esta especie, sentando las bases moleculares para ampliar mayores análisis que definan su taxonomía, siendo necesario aportar este trabajo a la base taxonómica a nivel internacional como preliminar.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Andrade, J. y Machado, A.** 2009. Aspectos morfológicos y ecológicos de las especies de Heptapteridae y Auchenipteridae presentes en el morichal del río Aguaro, estado Guárico. Venezuela. Boletín académico de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales. Vol. LXIX No. 3 Julio-Septiembre. 52 pg.
2. **Betancur, R.** 2003. Filogenia De Los Bagres Marinos (Siluriformes, Ariidae) Del Nuevo Mundo. Tesis De Maestría. Instituto De Ciencias Naturales de la Universidad Nacional De Colombia–Bogotá Colombia. 257 Pg.
3. **Carrasco, C. y Avalos, E.** 2000. Evaluación ambiental de la influencia de la actividad acuícola de la Estación Pesquera Ayacucho sobre las características físico- químicas y biológicas naturales del río Apacheta. Ayacucho. Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga Ayacucho.
4. **CESEL Ingenieros.** 2009. Estudio de factibilidad del aprovechamiento termoeléctrico del gas natural en Ayacucho. Electrocentro S.A. Línea Base Ambiental. Volumen IX CSL-074500-11-IT-04. Ayacucho Perú. 120 pg.

5. **FAO COFI: AQ.** 2004 Grupo Mixto de Expertos OMI/FAO/UNESCO-COI/OMM/OMS/OIEA/Naciones Unidas/PNUMA World Fisheries and Aquaculture Atlas. Promotion of sustainable commercial aquaculture in sub-Saharan Africa. Documento técnico de pesca No. 408, volúmenes 1-3. sobre los Aspectos Científicos de la Protección del Medio Ambiente Marino.
6. **Ferraris, Jr.** 2007. Checklist of the Catfishes, recent and fossils (Osteichthyes: Siluriformes) and catalogue of Siluriform primary types. ZOOTAXA 1418. Magnolia Press, New Zeland. 628 pg.
7. **García, J.** 2011. Comunicación oral sobre muestreo e identificación de peces de las microcuencas de Ayacucho desde 1977. UNSCH. Ayacucho Perú.
8. **Gill, R., Pop, M., Deboy, T., Eckburg, B., Turnbaugh, J., Samuel, S., Gordon, I., Relman, A., fraser-Liggett, M. y Nelson E.** 2006. Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome. Science 312.
9. **Karp, G.** 2005. Biología Celular Y Molecular. 4ta. Edición. Editorial Mc Graw-Hill México Df. Pg. 46-81, 209-225, 424-560, 793-804, 817-820.
10. **Landa, L., Landa, E. y Juscamayta, J.** 2010. Comunicación oral sobre materiales de pesca, abundancia estacional de peces bagre y contaminación del río Pongora. Ayacucho Perú.
11. **Lanteri, A.** 2007. Código de barras del ADN y sus posibles aplicaciones en el campo de la Entomología. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina. Museo de La Plata. Volumen 66, Nº 3-4. Agosto-Diciembre. Argentina.
12. **Levy, C., Gomes, A. y Gomes, B.** 2000. Biología do *Rhamdia quelen*, bagre (Teleostei, Pimelodidae). Ciencia Rural do Santa Maria. V-30. Nº. 1. Pg. 179-185. Universidade Federal do Santa Maria (UFSM). Brasil.

13. **Lodish, H. y Berk, A.** 2005. *Biología Celular Y Molecular*. 5ta. Edición. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires Argentina. 442 pg.
14. **López, H. y Miquelarena, A.** 2003. *Biogeografía de los peces continentales de la Argentina*. Buenos Aires Argentina. Pg. 509-550.
15. **Ortega, H.; Hidalgo, M.; Correa, E.; Espino, J.; Chocano, L.; Trevejo G.; Meza, V.; Cortijo, A. y Quispe, R.** 2010. *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. Primera edición. Editorial ASKHA E.I.R.L Biblioteca Nacional del Perú N° 2011-02224. 48 Pg.
16. **Palacios, R. Y Villoslada, P.** 2005. *Conceptos Básicos De Genética Molecular*. Centro De Investigación Médica Aplicada (CIMA). Universidad De Navarra, Pamplona, España Pg. 30-31.
17. **Perdices, A., Bermingham, E., Montilla A. and Doadriob, I.** 2002. *Evolutionary history of the genus Rhamdia (Teleostei: Pimelodidae) in Central America*. Smithsonian Tropical Research Institute, Apto. 2072, Balboa, Republic of Panamá. Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Jose Gutierrez Abascal 28006 Madrid, Spain. <http://www.academicpress.com>
18. **Posik, D., Ripoli, M., Peral, P. y Giovambattista, G.** 2007. *El Veredicto De La Genética*. Centro de Investigaciones en Genética (CIGEBA), UNLP. Artículo: Volumen17 nº 98. Abril-Mayo. Pg 51-57. La Plata Argentina.
19. **Reis, R., Kullander, S. y FERRARIS, J.** 2003. *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Editorial EDIPUCRS, Porto Alegre, Brasil. 742 pg.

- 20. Ringuélet, R.** 1975. Zoogeografía y ecología de los peces de aguas continentales de la Argentina y consideraciones sobre las áreas ictiológicas de América del Sur. Contribución Científica N° 52 al Instituto de Limnología. Ecosur, (3): Buenos Aires Argentina. 122 pg.
- 21. Rodiles, R., Hendrickson, D., Lundberg, J. y Humphries, J.** 2006. *Lacantunia enigmática* (Teleostei: Siluriformes) a new and phylogenetically puzzling freshwater fish from Mesoamerica. Zootaxa 1000: 1-24. Magnolia Press. www.mapress.com/zootaxa/
- 22. Romero, M.** 1984. Tesis: Estudio Morfológico Del Bagre Del Río Yucaes Ayacucho. Universidad Nacional de San Cristóbal de huamanga.
- 23. Silfvergrip, A.** 1996. A Systematic Revision of the Neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae). Printed in Sweden by Jonnes Snabbtryck Stockholm, Swedish Museum of Natural History. Pg: 1-156.
- 24. Tubaro, P. y Díaz de Astarloa, J.** 2008. ¿Qué bicho es?. Revista Científica del Museo Argentino de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata e Instituto Nacional de Investigación y desarrollo Pesquero. Volumen 18 número 106 agosto-septiembre Pg. 39-49.
- 25. Fish barcode of Life initiative.** Disponible en: <http://www.barcodinglife.org/>
- 26. Catalog of fishes.** Disponible en <http://www.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/>
- 27. Blast.NCBI Resourc/nucleotide.** Disponible en <http://www.GenBank.org>
- 28. Species Images of fish barcode of life Initiative.** Disponible en <http://www.fishbol.org>

ANEXO

CUADRO N° 14: Parámetros físico-químicos considerados para las muestras de agua del río Pongora, Ayacucho 2010.

PARAMETRO	MEDIDA	METODO	COMENTARIO
Caudal	L/seg.	Flotador (in situ)	Velocidad y profundidad media
Temperatura	°C	Directo (in situ)	Termómetro de mercurio
Salinidad	%	Electrométrico	Con conductímetro (Laboratorio)
pH	--	Electrométrico(in situ)	Con pHmetro digital HACH
Oxígeno	mgO ₂ /L	Directo (in situ)	Oxímetro digital HACH

Fuente: Carrasco y Avalos, 2000

CUADRO N° 15: Valores promedios de las características físico-químicas del agua en las cuatro puntos de muestreo de los meses mayo-agosto del 2010.

CARACTERISTICAS	PUNTOS DE MUESTREO			
	I	II	III	IV
Caudal(m ³ /seg) promedio	20.12	2.48	2.64	2.70
Temperatura(°C) promedio	20.22	20.55	20.78	21.00
Salinidad(%) promedio	0.17	0.19	0.20	0.20
pHpromedio	8.12	8.05	8.22	8.04
Oxígeno disuelto (mg/L) promedio	6.96	7.02	7.11	7.24

I = Puente Chacco

III = Compañía

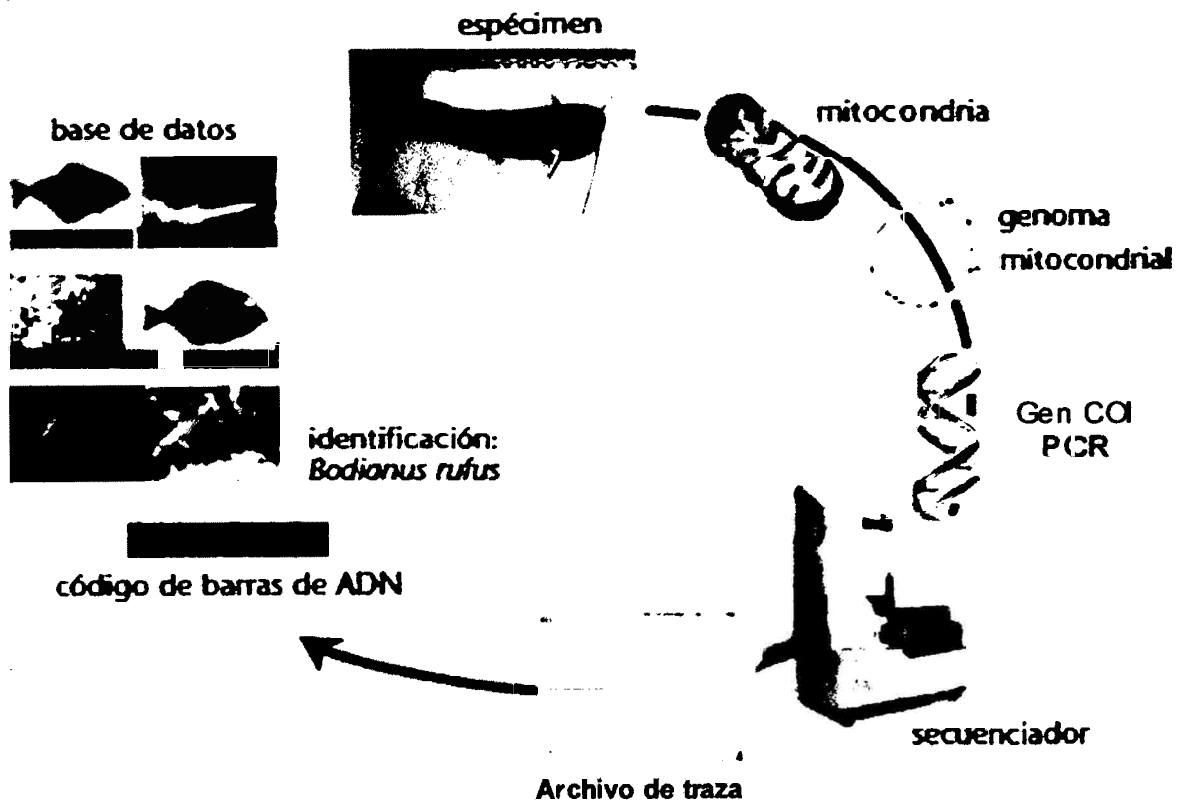
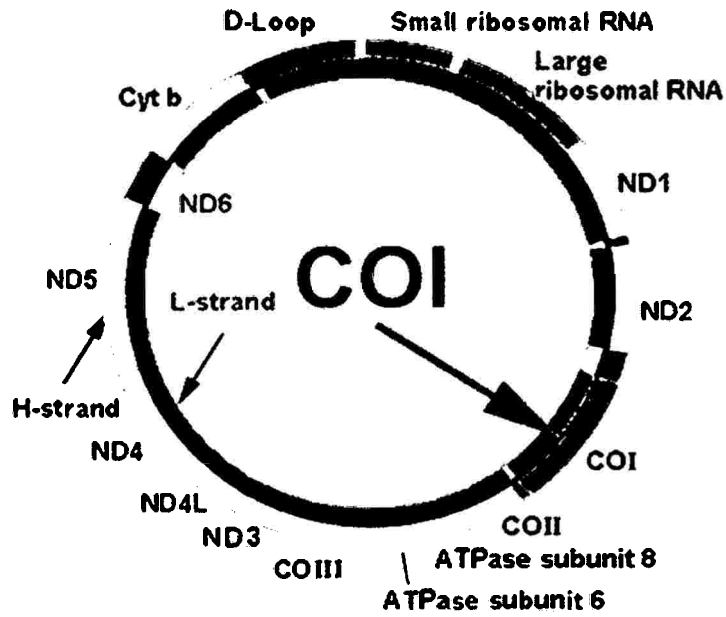
II = Unión río Chacco y Pongora

IV = Pongora antes de unión con río cachi

CUADRO N° 16: Ubicación geográfica de los cuatro puntos de muestreo en el curso del río Pongora, Ayacucho 2011.

N°	PUNTOS DE MUESTREO	UBICACION GEOGRAFICA (Grado sexagesimal)	ALTITUD (M.S.N.M.)
I	Puente Chacco	74° 12' 25.30 E	2471
		13° 05' 51.93 S	
II	Pongora unión con Chacco	74° 13' 45.02 E	2450
		13° 05' 2.50 S	
III	Compañía	74° 15' 16.68 E	2417
		13° 04' 24.81 S	
IV	Pongora antes de la unión con río Cachi.	74° 16' 16.74 E	2412
		13° 04' 14.01 S	

GRAFICO N° 06: Región COI del ADN mitocondrial y su utilidad para la caracterización de *Rhamdia sp* "bagre" del río Pongora.



Fuente: Tubaro y Diaz de Astarloa, 2008

FOTOGRAFIA N° 03: Aparejos de captura y pesca de *Rhamdia sp* "bagre" del río Pongora, Ayacucho 2011.



Aparejo de captura nocturna

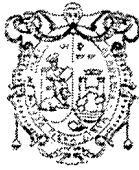
Embudo o Tuyco: Diseño artesanal a base de listones de madera local y red anchovetera

Aparejo de pesca diurna

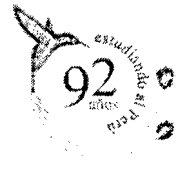
Atarraya: Red de nylon (1/2") de luz de malla



FOTOGRAFIA N° 04: Muestra para extracción y secuenciación del ADN mitocondrial de *Rhamdia sp* "bagre" del río Pongora, Ayacucho 2011.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA



MUSEO DE HISTORIA NATURAL

Departamento Ayacucho
Provincia Huamanga
Distrito Vinchos y Pacaycasa
Localidad Chacco y Compañía
Río Pongora
Colectores: Julio Minaya y Julio García
Orden Familia
Siluriformes Heptapteridae
Especie
Rhamdia quelen Quoy & Gaimard, 1824

No. Ejemp.	L. Estandar	L. Cabeza	L. Pre Dors.	L. Intorb	L. Pre Anal
1	130.8	30.4	44.4	8.6	86.4
2	153.3	38.2	56.5	11.7	103.5
3	132.1	30.6	46.5	9.4	89.7
4	127.5	30.4	40.6	9	88.4
5	134.1	30.5	46.7	9.8	88.9
6	104.8	25.6	35.7	7.7	70.6
7	82.4	20.3	30.3	5.6	58.9
8	104.8	25.1	36	7.6	72.1
9	133.1	30	43.7	8.8	89.7
10	127.5	28.3	43.6	8.8	87.8

Referencia: Ferraris, 2007

Las muestras (10) han sido analizadas en el Departamento de Ictiología y se hacen llegar un resumen de los resultados para los fines que estimen convenientes.

Lima, 24 de junio de 2011

MSc. Hernán Ortega
Departamento de Ictiología



Avenida Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Tel: (511) 471-0117, 470-4471,
470-7918, 619-7000 anexo 5703
Fax: (511) 265-6819

e-mail: museohn@unmsm.edu.pe
http://museohn.unmsm.edu.pe

Certificado de servicio brindado por el Laboratorio de Ictiología del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Lima Perú, por el estudio morfológico realizado. 2011.



May23,2011

RE: Certification of Services Received

To whom it may concern,

Mrs. Ximena Velez-Zuazo developed a project, to support the thesis of Mr. Julio Minaya Garcia, in which she required the identification of several species of fish from Peru. In particular, she sequenced 18 samples of catfish pertaining to the *Rhamdia* species. These sequences were processed and paid in full at the Sequencing and Genotyping Facility of the University of Puerto Rico, Rio Piedras campus, during the year of 2010.

For further information, please contact us through e-mail or by phone to the contact information below.

We appreciate your support.

Sincerely,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Dania M. Rodríguez'.

Dania M. Rodríguez,
Scientific Instrumentation Specialist
Sequencing and Genotyping Facility (SGF)

Certificado de servicio brindado por la Universidad de Puerto Rico Centroamérica por el análisis molecular realizado. 2011.

**ANEXO N° 21
MATRIZ DE CONSISTENCIA**

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
<p>Caracterización molecular de <i>Rhamdia sp</i> (Pisces, Heptapteridae) "bagre" del río Pongora, Ayacucho Perú-2010.</p>	<p>¿Cuáles serán las características moleculares de la <i>Rhamdia sp</i>, "bagre" del río Pongora Ayacucho?</p>	<p>Objetivo General: Caracterizar molecularmente a la <i>Rhamdia sp</i> "bagre" del río Pongora de Ayacucho.</p> <p>Objetivos Específicos: -Caracterizar morfológicamente a la especie <i>Rhamdia sp</i> "bagre" del río Pongora de Ayacucho.</p> <p>-Secuenciar el gen COI de la enzima Citocromo Oxidasa subunidad 1 del ADN mitocondrial de la especie <i>Rhamdia sp</i> "bagre" del río Pongora de Ayacucho.</p>	<p>La secuencia de nucleótidos del gen Citocromo Oxidasa subunidad 1 (COI) del ADN mitocondrial permitirá la caracterización de la <i>Rhamdia sp</i> "bagre" del río Pongora de Ayacucho.</p>	<p>VARIABLES en estudio: Caracterización molecular.</p> <p>Indicador: La secuencia de nucleótidos del gen Citocromo Oxidasa subunidad 1 (COI) del ADN mitocondrial</p>	<p>Los peces bagres de la familia Heptapteridae y orden Siluriformes se encuentran distribuidos en aguas continentales desde el sur de México (región Centroamericana), hasta el centro de Argentina (región Sudamericana) con mayor distribución en las cuencas del Amazonas, Orinoco y del Plata (Andrade y Machado 2009). Ringuélet. "En Sudamérica se estima que la familia Heptapteridae integra entre 150 a 200 especies válidas, y de 40 a 50 especies por ser descritas, El Perú es uno de los países con mayor diversidad ictiológica, con más de un millar de especies nativas de peces reconocidas (1 010 registradas) (Ortega y col., 2010) y los ríos Chacco y Pongora son habitados también por peces bagre <i>Rhamdia sp</i>, cuyo valor taxonómico todavía no se ha podido concluir a nivel de especie por variaciones morfológicas con otras especies de <i>Rhamdia</i>, pero se cree que pertenece a una nueva especie por su adaptación evolutiva (García, 2010). En la actualidad el análisis de ADN como portadora de información genética resuelve este tipo de controversias y brinda conclusiones específicas en la identificación de especies y subespecies emparentadas difíciles de discriminar morfológicamente. El GenBank es una base de datos de secuencias de ADN a disposición de la comunidad científica El BARCODE es una base de datos nucleotídicas del gen Citocromo Oxidasa subunidad 1 (COI) de ADN mitocondrial propuesto como un código de barras genético (identificador universal) para especies animales, debido a su pequeña variación intraespecífica (Tubaro y Diaz de Astarloa, 2008). Estos patrones se utilizarán para caracterizar a la <i>Rhamdia sp</i> "bagre" del río Pongora de Ayacucho.</p>	<p>Tipo de Investigación: Básica descriptiva.</p> <p>Nivel de Investigación: Libre.</p> <p>Diseño: Descriptivo.</p> <p>Población: Todos los peces bagre que habitan en el río Pongora de Ayacucho.</p> <p>Muestra: 65 especímenes de bagre capturados para los estudios de caracterización.</p> <p>Metodología Captura de especímenes En los meses de mayo-agosto del 2010, en el curso del río Pongora de Ayacucho.</p> <p>Caracterización morfológica Empleo del método merístico y morfométrico, según modelos (Silfvergrip, 1996; Ferraris, 2007).</p> <p>Caracterización molecular Extracción y secuenciamiento del ADN mitocondrial y caracterización molecular por comparación en la base de datos de GenBank y BARCODE.</p>

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R. D. N° 278 - 2011 - FCB - D

BACH. Julio Minaya García

En la ciudad de Ayacucho a los veintitrés días del mes de setiembre del dos mil once, siendo las cuatro con quince minutos, reunidos en el auditorium de la Facultad de Ciencias Biológicas, con la finalidad de recepcionar la sustentación y defensa del trabajo de tesis titulado: *Caracterización molecular de Rhamdia sp (Pisces, Heptapteridae) "bagre" del río Pongora, Ayacucho Perú – 2010*; presentado por el Bach. Julio Minaya García, acto académico que estuvo bajo la presidencia del Decano (e) Dr. Victor Alegría Valeriano y con la participación de los miembros jurados Mg. Martín Tenorio Bautista, Blgo. Tomás Miranda Tomasevich, Mg. Gilmar Peña Rojas y M.Sc. Jaime García Varas, Secretario Docente Mg. Aurelio Carrasco Venegas.

El Decano (e), dió inicio al acto de sustentación de tesis, previa verificación de la documentación sustentatoria del acto académico, luego del cual invitó al sustentante a exponer el trabajo de investigación, haciéndole conocer las normativas existentes que rigen la sustentación de los trabajos de tesis de acuerdo al Reglamento General de la UNSCH. El sustentante inició la exposición de su trabajo de investigación haciendo uso de medios audiovisuales, en el tiempo establecido de acuerdo al Reglamento de la UNSCH; luego de la finalización de la exposición el Decano (e) apertura la segunda etapa, indicando a los miembros del jurado a fin de que puedan realizar las preguntas, correcciones y/o aclaraciones que consideren pertinente.

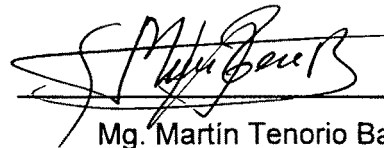
Culminada esta etapa el Decano (e) invitó al sustentante y público asistente a abandonar el auditorium, a fin de que el jurado calificador pueda deliberar y emitir la calificación correspondiente, el cual es como sigue:

JURADO CALIFICADOR	EXPOSICIÓN	RPTA. A PREGUNTAS	PROMEDIO
Mg. Martín Tenorio Bautista	18	16	17
Mg. Gilmar Peña Rojas	16	14	15
M.Sc. Jaime García Varas	16	16	16
Blgo. Tomás Miranda Tomasevich	18	17	18

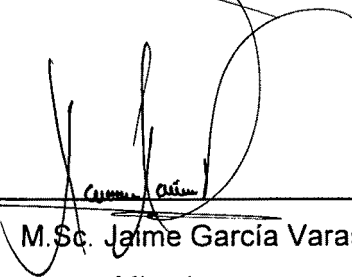
De la evaluación efectuada el sustentante obtuvo la calificación promedio de DIECISIETE (17) de la cual dan Fe los Miembros del Jurado calificador, estampando sus firmas al pie del presente. Culminando el acto de sustentación de tesis siendo las siete de la noche.



Dr. Victor Alegria Valeriano
Presidente



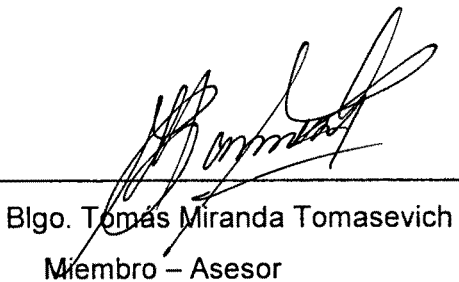
Mg. Martin Tenorio Bautista
Miembro



M.Sc. Jaime Garcia Varas
Miembro



Mg. Gilmar Peña Rojas
Miembro



Blgo. Tomás Miranda Tomasevich
Miembro – Asesor



Mg. Aurelio Carrasco Venegas
Secretario Docente (e)