

# Desarrollo de una base de datos de macroinvertebrados acuáticos para futuros estudios de ADN ambiental en regiones amazónicas del Ecuador

## PROBLEMA

La región amazónica del Ecuador se ha visto amenazada en los últimos 40 años por actividades antropogénicas que han reducido el 16% de su cobertura original. Actividades como la extracción de petróleo, minería, proyectos hidroeléctricos y asentamientos urbanos, han incrementado la contaminación de las aguas que recorren las cuencas amazónicas del Ecuador (Troya et al., 2013). Una de las mejores formas de monitorear la calidad de agua que presentan los ecosistemas de agua dulce es mediante el uso de bioindicadores, en este caso *macroinvertebrados acuáticos* (Gamboa et al., 2008). Y la manera más eficaz de conocer su biodiversidad en un sitio determinado, es aplicando una novedosa técnica de muestreo conocida como *ADN ambiental* (Hinlo et al., 2017). Sin embargo, los estudios sobre esta fauna bentónica en regiones del Ecuador son escasos (Arroyo & Encalada, 2009).

## OBJETIVO GENERAL

En este proyecto integrador se pretende crear una base de datos de macroinvertebrados acuáticos que sirva como trabajo de referencia para el desarrollo de estudios de ADN ambiental en regiones amazónicas del Ecuador mediante identificación taxonómica morfológica y molecular de especímenes.

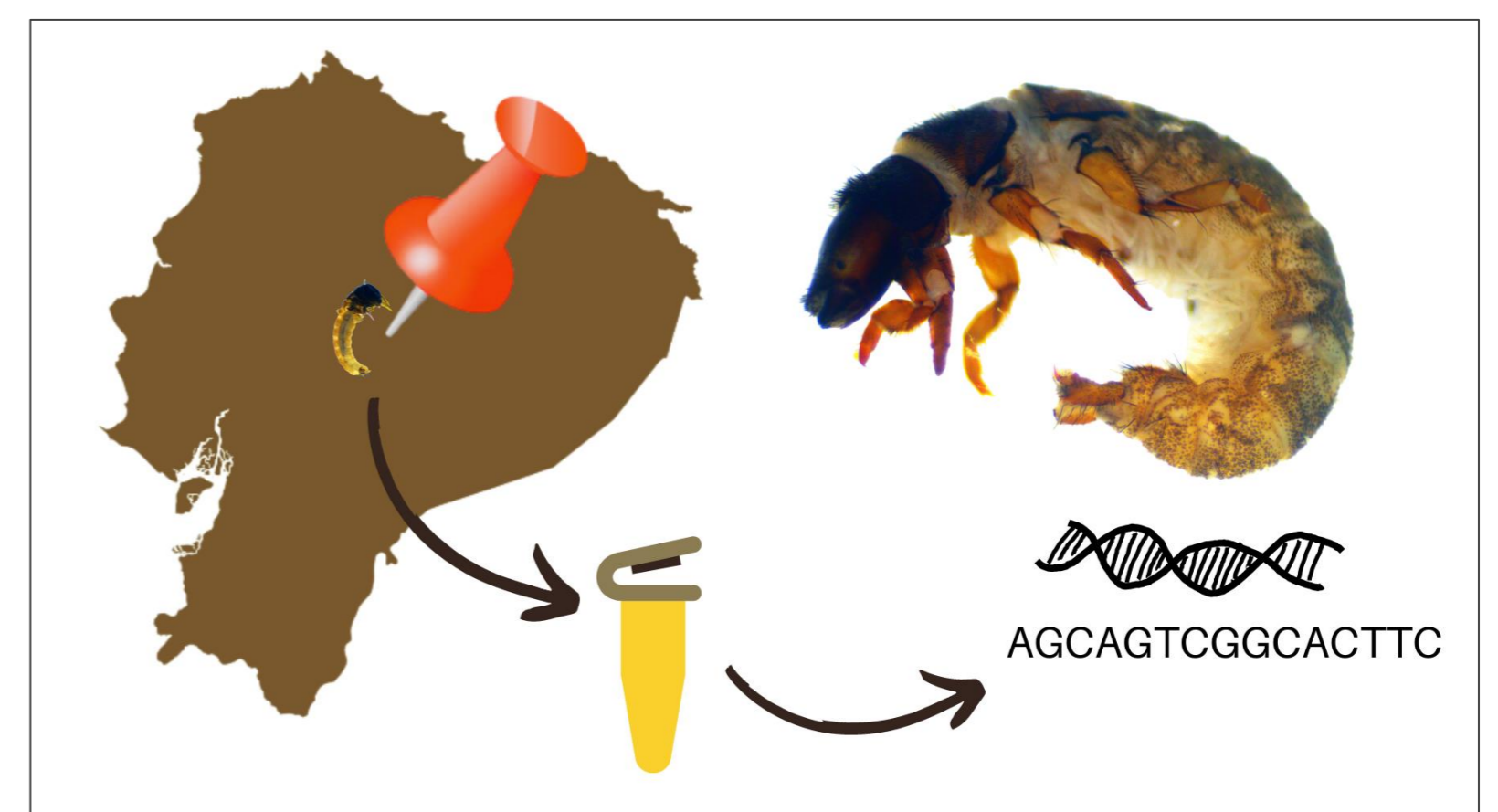


Figura 1. Representación del proyecto integrador propuesto

## PROPUESTA

1. Se identificaron morfológicamente especies de macroinvertebrados acuáticos muestreados en regiones amazónicas del Ecuador utilizando claves dicotómicas.
2. Se aplicaron técnicas moleculares (extracción de ADN y amplificación por PCR) a los macroinvertebrados acuáticos para su respectiva secuenciación e identificación molecular.
3. Finalmente, se compiló la información taxonómica morfológica y molecular en una base de datos accesible de las especies de macroinvertebrados acuáticos presentes en regiones amazónicas del Ecuador.

Esta será la primera base de datos en contar con información geográfica, temporal y con resultados físico-químicos de los sitios de muestreo, además la identificación morfológica y molecular de macroinvertebrados acuáticos. La cual, servirá como información de referencia para realizar estudios de ADN ambiental en las cuencas amazónicas del Ecuador.

## RESULTADOS

Se realizaron muestreos de macroinvertebrados acuáticos en 12 puntos de 3 zonas de la provincia de Napo, de los cuales se identificaron morfológicamente 219 organismos.



Figura 2. Mapa de los sitios muestreados en la provincia de Napo

De este grupo identificado, se tomaron individuos de 105 organismos para realizar extracción de ADN y amplificación por PCR. Por el momento, se secuenciaron 55 especies de macroinvertebrados acuáticos, trabajo que continúa en ejecución. Estas secuencias, fueron analizadas mediante paquetes bioinformáticos para obtener su identificación molecular realizando una búsqueda en las bases de datos especializadas disponibles en la web. Con toda esta información se desarrolló la base de datos propuesta.

#	A	B	C	D	L	M	N	P	R
BASE DE DATOS DE MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS									
1	Campo	Familia	Subfamilia/Genero	Identificación morfológ.	Secuencia ADN	Primer	Identificación molecular	Query cover	% Identidad
2	REEB 0001	Hyalellidae	Hyalella sp. 1	Hyalella sp. 1	GAGCAATTGGCACTTCTTAAGAGT	Forward	Hyalella cajasi	0.98	93.23%
3					TAGAAATGGCACGTTATATTATT	Reverse	Hyalella cajasi	0.99	92.08%
4					GAGCCGGATAATCGGAACCTCCCTA	Forward	Austrocosmoecus hirsutus	0.98	85.15%
5	REEB 0002	Limnephilidae	Hesperophylax sp. 1	Hesperophylax sp. 1	CAAAAAACAAAAGATAGGTAAC	Reverse	Austrocosmoecus hirsutus	0.96	83.68%
6					GAGCTGCTATAGTAGGAAGTCTAT	Forward	Helobdella adiaistola	0.96	83.28%
7					GATATTGGAACTATATTAATTC	Reverse	Helobdella octatestisaca	0.91	83.42%
8	REEB 0003	Glossiphoniidae	Helobdella sp. 1	Helobdella sp. 1	TCGGAGCATGAGCTGCAATAGTATG	Forward	Helobdella adiaistola	0.98	84.83%
9					AAAAGATATAGGAACCTTATCTTC	Reverse	Helobdella octatestisaca	0.99	84.54%
10					GATATTGGAACTATATTAATTC	Reverse	Helobdella paranensis	0.98	89.38%
11					TCGGAGCATGAGCTGCAATAGTATG	Forward	Helobdella simplex	0.92	89.35%
12	REEB 0004	Glossiphoniidae	Helobdella sp. 2	Helobdella sp. 2	AAAAGATATAGGAACCTTATCTTC	Reverse	Helobdella paranensis	0.97	86.73%
13					TTTGATCAGCATAGTAGGAACATC	Forward	Helobdella simplex	0.92	86.64%
14					TATAAGATATTGGAACATTATTTT	Reverse	Notonecta glauca	0.99	89.84%
15	REEB 0006	Naucoridae	Pelocoris sp. 1	Pelocoris sp. 1	GAGCGGG-ATATCGGAACCTCTCT	Forward	Notonecta reuteri	0.98	89.92%
16					TTTAGATATTGGAACATTATTTT	Reverse	Notonecta glauca	0.99	89.80%
17					TATAAGATATTGGAACATTATTTT	Reverse	Notonecta reuteri	0.97	89.95%
18					GAGCGGG-ATATCGGAACCTCTCT	Forward	Notonecta reuteri	0.98	88.10%
19					TTTAGATATTGGAACATTATTTT	Reverse	Notonecta glauca	0.99	89.80%
20	REEB 0007	Libellulidae	Micrathyrina sp. 1	Micrathyrina sp. 1	GAGCGGG-ATATCGGAACCTCTCT	Forward	Notonecta reuteri	0.98	87.72%
21					TTTAGATATTGGAACATTATTTT	Reverse	Notonecta glauca	0.99	86.83%
22	REEB 0008	Corydalidae	Corydalis sp. 1	Corydalis sp. 1	GAGCGGG-ATATCGGAACCTCTCT	Forward	Corydalis sp.	0.95	86.83%
23					TTTAGATATTGGAACATTATTTT	Reverse	Corydalis sp.	0.97	95.15%
24	REEB 0014	Limnephilidae	Anomalocosmoecus sp. 1	Anomalocosmoecus sp. 1	GAGCGGG-ATATCGGAACCTCTCT	Forward	Anomalocosmoecus illiesi	0.75	99.18%
25					TTTAGATATTGGAACATTATTTT	Reverse	Anomalocosmoecus illiesi	0.7	99.10%
26					AGCAGTCGGCACTTCTTAAGAGT	Forward	Hyalella cajasi	1	87.52%
27					ACACAAAATAAGAATTGATACGTTG	Reverse	Hyalella sp.	0.95	87.91%
28	REEB 0015	Hyalellidae	Hyalella sp. 1	Hyalella sp. 1	GAGCAGGTATTACAGGAATGTCCTC	Forward	Hyalella cajasi	0.96	86.28%
29					ACACACATTAAGAATTGGAACCC	Reverse	Hyalella sp.	0.9	86.75%
30	REEB 0016	Hydropsychidae	Smicridea sp. 1	Smicridea sp. 1	GAGCAGGTATTACAGGAATGTCCTC	Forward	Smicridea microsaccata	0.98	100.00%
31					ACACACATTAAGAATTGGAACCC	Reverse	Smicridea microsaccata	0.96	100.00%

Figura 3. Ejemplo de la base de datos de macroinvertebrados acuáticos con identificación morfológica y molecular

## CONCLUSIONES

- Se identificaron morfológicamente 219 organismos de macroinvertebrados acuáticos.
- Se realizó extracción de ADN de 67 especies, de los cuales 55 especies lograron ser amplificadas por PCR.
- Se obtuvieron las secuencias de ADN de las 55 especies amplificadas.
- Se ratificaron las identificaciones morfológicas con los resultados moleculares mediante programas bioinformáticos.
- Se compilaron: los datos físico-químicos, geográficos y temporales de los 12 puntos de muestreo; los datos morfológicos de 219 organismos y los datos moleculares de 55 especies de macroinvertebrados acuáticos.