

APLICACIÓN DE LOS CÓDIGOS DE BARRAS DE DNA EN EL DESCUBRIMIENTO DE LA DIVERSIDAD ANIMAL MARINA

Márquez Becerra, Carlos

Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California, Carretera Tijuana-Ensenada s/n, Ensenada B.C., México 22800. email: cmarquez@uabc.edu.mx

RESUMEN. Los códigos de barras de DNA constituyen un instrumento cuyo objetivo central es la identificación acertada de todas las especies existentes en planeta. La secuencia empleada como identificador de especies animales es un fragmento del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I (COI), cuya longitud es de 350 a 800 pb. El fragmento ha resultado útil en la identificación de especies crípticas y ha ampliado el conocimiento de la diversidad animal; no obstante, no resulta exitoso en plantas y hongos y es inconsistente en diversos grupos como las esponjas de mar. El gen COI es un recurso que a pesar de sus inexactitudes ha aportado enormes beneficios para el conocimiento de la biodiversidad. En este trabajo se analiza la información actual que está en la base de datos BOLD Systems v3, se examina la dinámica de BOLD a través del tiempo y se complementa con información reciente de la literatura. Existen varios hechos que el análisis revela, entre ellos que la generación de secuencias es notable entre 2009 y 2013, y se aprecia una aceleración de 2013 a 2015. Existen datos contrastantes tales como que de las 52525 especies de moluscos marinos sólo se conozcan los códigos del 9.2% y de las 47217 especies de artrópodos se tengan códigos para el 7.6%, en contraste con las 21515 especies de cordados marinos que cuentan con los códigos para el 33.8%. Esta comparación indica un sesgo a favor de las especies carismáticas y de las que tienen importancia económica. Destaca que el número de secuencias de todas las formas de vida que están asociadas a una especie bien identificada siempre está relacionado a un 28 a 30% de especies interinas, ya que es difícil asignarles un nombre definitivo, lo que indica un alto nivel de incertidumbre.

Palabras clave: DNA, código de barra, COI, diversidad animal, marina

Application of DNA barcodes for the discovery of marine animal diversity

ABSTRACT. DNA barcoding is a useful tool for the correct identification of species. The most commonly used sequence is a 350 to 800 bp-long fragment of the mitochondrial gene Cytochrome Oxidase I (COI). This fragment has been successfully used to identify cryptic species and has contributed to an increased understanding of animal diversity. However, its use in plants and fungi has been unsuccessful and results have been inconsistent when used in other groups such as marine sponges. This work analyses current data available in the BOLD System V3 database. It compares how the BOLD system has evolved and complements this with an analysis of current literature. This analysis reveals several important facts, among which is the notable increase in sequences submitted between 2009 and 2013 and an increase in the rate of sequence submission since 2013. The analysis also reveals a clear bias in the phyla that are being sequenced for barcoding. Of the 52525 species of marine molluscs only 9.2% have their barcode available. This percentage is even lower (7.6%) for arthropods. This contrasts with marine chordates in which 33.6% of the 21515 known species have their barcodes available. This data suggests a bias towards charismatic and commercially important species. Finally, the general analysis of BOLD database reveals 70% of barcodes are assigned to clearly identified species and near 30% to interim species (those for which a name cannot be definitively assigned to), which highlights the inaccuracies of the identification system.

Keywords: DNA, barcode, COI, animal diversity, marine

Márquez, C. 2015. Aplicación de los códigos de barras de DNA en el descubrimiento de la diversidad animal marina. *CICIMAR Océánides*, 30(2): 35-52.

LA BIODIVERSIDAD

Biodiversidad es un concepto amplio que se emplea para definir la diversidad de genes, poblaciones, razas, especies, comunidades y ecosistemas; aunque el uso más generalizado es para indicar la diversidad de especies en un ambiente (31 *et al.*, 2014).

Las estimaciones del número de especies en la tierra aumentan con frecuencia debido a que cada año se realizan registros nuevos. Wilson (1992) indicaba que en promedio cada año se descubrían dos nuevas especies de aves en algún lugar del mundo, aunque usualmente los descubrimientos se realizaban en montañas y valles remotos. También se descubrían con menos frecuencia algunas especies de mamíferos, como el lémur de Madagascar *Pro-*

pithecus tattersalli y el mono *Cercopithecus solatus* de Gabón en África Central, descritos por primera vez en 1988. En 1990, se descubrió un primate a sólo 65 Km de Sao Paulo, Brasil y en 1991 el cetáceo odontoceto *Mesoplodon peruvians* (Wilson, 1992).

La biodiversidad marina

En 1997 se estimaba que se habían descubierto en el planeta 1450000 especies terrestres que representan el 78% de la biota total; 318000 especies acuáticas incluyendo marinas y dulceacuícolas que constituyen el 17% y 100000 especies de organismos simbioses que significan el 5% de las especies vivas (Reaka-Kudla, 1997). Sin embargo, aunque a la fecha se desconoce con precisión cuantas especies existen, en 2010 se calculaba que existían aproxi-

Fecha de recepción: 16 de octubre de 2015

Fecha de aceptación: 13 de noviembre de 2015

madamente 1900000 de especies descritas y se estimaba que pudieran existir 11000000. En el ambiente marino están presentes los tres dominios de la vida: bacteria, archaea y eukarya. En 2010 se habían descrito 229602 especies de animales y plantas marinas, así como varios miles de especies de bacterias y archaea, aunque se planteaba que pudieran existir varios millones adicionales de los que se desconocía una descripción científica (Radulovici *et al.*, 2010).

Mediante un análisis de la diversidad de las especies existentes en la tierra y los océanos, Mora *et al.* (2010) estimaron que todos los dominios de la vida eucarionte incluían a 8700000 especies a nivel global de las que 2200000 correspondían a la diversidad marina; mencionan que las actividades de clasificación taxonómica realizadas en los últimos 250 años habían registrado alrededor de 1200000 especies, por lo que de acuerdo a sus estimaciones faltaba por identificar el 86% de las especies terrestres y el 91% de las especies marinas (Mora *et al.*, 2011).

Las estimaciones del número de especies que existen en la tierra y el mar han sido discrepantes. Ello motivó a que en la década comprendida entre 2000 y 2010 se realizara el enorme programa de investigación sobre la diversidad en los océanos, denominado Censo de la Vida Marina que estuvo orientado a registrar la biodiversidad en el mar. En este programa participaron más de 2700 científicos de 80 países y se llevaron a cabo 538 expediciones. Se requirió un presupuesto de 650 millones de dólares que permitieron descubrir 1200 especies nuevas para la ciencia y con sus resultados se contribuyó a la literatura con 2600 publicaciones (Costello *et al.*, 2010). El censo marino se desarrolló debido al reconocimiento de que la mayor parte del planeta Tierra en realidad es océano; de hecho más del 80% del hemisferio sur es océano y se estimaba que el 99% de la biósfera estaba en el mar; por ello se requería de una investigación sistemática y a gran escala para conocer la diversidad de especies. A pesar de tal esfuerzo se reconoce que existen ambientes que aún están poco estudiados, que representan el 70% del océano cuya profundidad es en promedio 4000 metros y que en sus sitios más profundos alcanza hasta 10924 metros (Ausubel *et al.*, 2010). En la Tabla 1 se incluyen descripciones breves y las direcciones electrónicas de Census of Marine Life (CoML), Marine Barcode of Life (MarBOL) y otros sitios relacionados con el tema.

Existen varios grupos taxonómicos considerados ricos en especies que se han investigado poco, en particular microcrustáceos y nemátodos, en comparación con los grupos taxonómicos grandes de importancia económica, como macrocrustáceos, moluscos y peces, que constituyen cerca del 50% de todas las especies distribuidas en el planeta (Costello *et al.*, 2010). Con el propósito de determinar el número de especies distribuidas en 25 regiones del mundo, Costello *et al.* (2010) registraron

que Australia tiene 32889 y Japón una cifra similar (32777), en tanto que China cuenta con 22365. En el mar Mediterráneo existen 16848 y en el Golfo de México están presentes 15374. Sin embargo, cuando se establece la relación de número de especies por unidad de área (spp./área), Corea del Sur presenta el cociente más alto (32.3), en China es de 26.9, en tanto que en Sudáfrica es 15.3, en el mar Báltico 14.3 y en el Golfo de México corresponde a 10.1. En sentido contrario, las regiones con menor cantidad de especies por área son Antártida (0.4), Ártico de Canadá (0.9), Patagonia (1.4) y Alaska (1.6) (Costello *et al.*, 2010).

En cuanto a los metazoarios marinos, Bucklin *et al.* (2011) estimaron que el número de especies era cercano a 230000 y que se agrupaban en 31 phyla. La figura 1 muestra los porcentajes de las especies de los 10 phyla con más diversidad que juntos representan el 97.5% de la vida animal de los océanos, mientras que los otros 21 phyla solo constituyen el 2.5%.

La relación entre marcadores moleculares y biodiversidad

En los últimos cuarenta años los estudios relacionados con la identificación de especies y de poblaciones, así como de híbridos en los niveles de razas y variedades se han fortalecido con la aplicación de métodos que revelan las variaciones en el nivel de enzimas y DNA. El estudio de las isoenzimas y sus variaciones en las poblaciones fue el primer método molecular que se aplicó para examinar numerosas especies que estaban estrechamente relacionadas en el aspecto morfológico (Ayala & Powell, 1972). La distinción entre dos especies se fundamentó en las frecuencias de los alelos y en la cantidad de alelos compartidos por las especies (Avice, 1974). Algunos años antes se había iniciado la evaluación de la variación y heterocigosidad genéticas en las poblaciones, mediante la técnica de electroforesis de enzimas (Harris, 1966; Lewontin & Hubby, 1966) pero esta técnica no se había aplicado para distinguir especies. Poco después se incorporaron las técnicas que hicieron evidentes los polimorfismos de la longitud del DNA fragmentado con enzimas de restricción (RFLP). A pesar de los avances que significaron los dos métodos anteriores, la revolución en el estudio de las variaciones en el DNA se produjo a partir del descubrimiento de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de su aplicación con las técnicas de secuenciación del DNA. A partir de la segunda mitad de la década de los ochenta se desarrollaron y se aplicaron nuevos marcadores entre los que destacan los siguientes: Amplificación aleatoria del DNA polimórfico (RAPD), polimorfismos en la longitud de los fragmentos de DNA amplificados (AFLP), secuencias simples repetidas (SSR), más ampliamente conocidas como microsatélites, y las secuencias intersatelitales (ISSR) que se ubican en un extremo de los microsatélites, entre otros numerosos marcadores moleculares desarrollados en

Tabla 1.- Bold Systems V3 y agrupaciones asociadas (<http://www.boldsystems.org/>)

Nombre de la organización/proyecto	Sitio en internet	Descripción	Nombre de la organización/proyecto	Sitio en internet	Descripción
International Barcode of Life Project (iBOL)	http://www.ibol.org/	El proyecto (iBOL) utiliza secuencias cortas de genes como herramienta para la identificación de las especies. Contribuye al conocimiento de la biodiversidad en el planeta.	Global Biodiversity Information Facility (GBIF)	http://www.gbif.org/	GBIF es una iniciativa internacional que integra una base de datos abierta al público acerca de la biodiversidad y es apoyada por varios gobiernos.
Consortium for the Barcode of Life (CBOL)	http://www.barcodeoflife.org	CBOL es un consorcio internacional que desarrolla los códigos de barras de DNA para hacer posible un sistema global que sea útil para la identificación de las especies.	Census of Marine Life (CoML)	http://www.coml.org/	CoML es una red global que involucró a más de 80 países, que trabajó durante 10 años para conocer la diversidad, distribución y abundancia de la vida en los océanos.
The Canadian Centre for DNA Barcoding (CCDB)	http://www.ccdb.ca/	El CCDB está orientado a proveer de información para la identificación confiable de las especies a entidades gubernamentales y privadas de más de 50 países.	Fish barcode of Life (FISH-BOL) org/.	http://www.fishbol.org/	FISH-BOL es un proyecto global cuyo motivo es lograr barcodes, imágenes, bases de datos y catálogos para todas las especies de peces.
National Center for Biotechnology Information (GenBank, NCBI)	http://www.ncbi.nlm.nih.gov	GenBank es la entidad que reúne la mayor cantidad de secuencias de DNA, RNA y proteínas de todos los genes e incluye secuencias barcodes de DNA	Marine Barcode of Life (Mar-BOL)	http://www.marinebarcoding.org/	MarBOL es una iniciativa internacional enfocada a utilizar DNA barcodes para identificar todas las formas de vida animal en el mar.
Encyclopedia of Life (EOL)	http://www.eol.org/	EOL reúne la información de todas las formas de vida que está dispersa y la hace disponible a todas las personas e instituciones interesadas en conocer la biodiversidad.	Polar Barcode of Life (PolarBOL)	http://www.polarbarcoding.org	PolarBOL es un programa cuyo fin es aplicar los DNA barcodes para hacer más eficiente la identificación de las especies que habitan los polos.

las últimas décadas (Avice, 2004). Otra aportación central para el entendimiento de la diversidad de especies y sus relaciones filogenéticas data de la década de los sesenta cuando se utilizaron por primera vez las secuencias de aminoácidos del Citocromo C (Fitch & Margoliash, 1967). Es propio de tales investigaciones establecer correlaciones entre una secuencia específica de aminoácidos o de nucleótidos con una especie bien caracterizada.

Por ello, cuando se discute acerca de los antecedentes de los código de barras de DNA (DNA barcode) con frecuencia se exponen ejemplos de varias décadas atrás. Durante la década de los noventa se publicaron diversas investigaciones fundamentadas en dos áreas complementarias: una buena identificación taxonómica de los especímenes y el estudio de las secuencias de genes entre los que destacan Citocromo c Oxidasasubunidad I (COI), Citocromo b (Cyt b) y 16S ribosomal, entre otros (Fig. 2).

El significado de los códigos de barras de DNA

Los códigos de barras de DNA están fundamentados en las secuencias de bases de un gen específico o de uno de sus fragmentos y su principal propósito es que sean capaces de identificar cada una de las especies de manera indiscutible. El problema central

es que no existe un código de barras universal que se pueda emplear para identificar a todas las especies. El gen **COI** es el más utilizado como un código de barras aplicado a las especies animales, pero no es útil cuando se pretende aplicar a las plantas y los hongos. Por esta razón se ha propuesto el uso de un fragmento de aproximadamente 1450 pb de los genes **rbcl** y **matK** como código de barras para las plantas terrestres. Entonces, cuando se desea la identificación de plantas a nivel de especie se recomienda emplear las secuencias de dos genes (**rbcl** y **matK**) y además se hace notar que no siempre se tendrá éxito; ya en un estudio de 907 especímenes examinados de plantas terrestres solo se logró identificar con precisión 72% de los casos a nivel de especie y 28% se pudo ubicar en un grupo correcto de especies congénicas. Ante una situación con este grado de dificultad es conveniente incluir una tercera secuencia, y en los casos más difíciles hasta un cuarto fragmento de otro gen (CBOL Plant Working Group, 2009).

Otras secuencias de DNA empleadas como instrumentos para identificar especies son: el Citocromo b, la subunidad pequeña de RNA ribosomal y las regiones espaciadoras transcritas internas de los genes nucleares de RNAr (ITS).

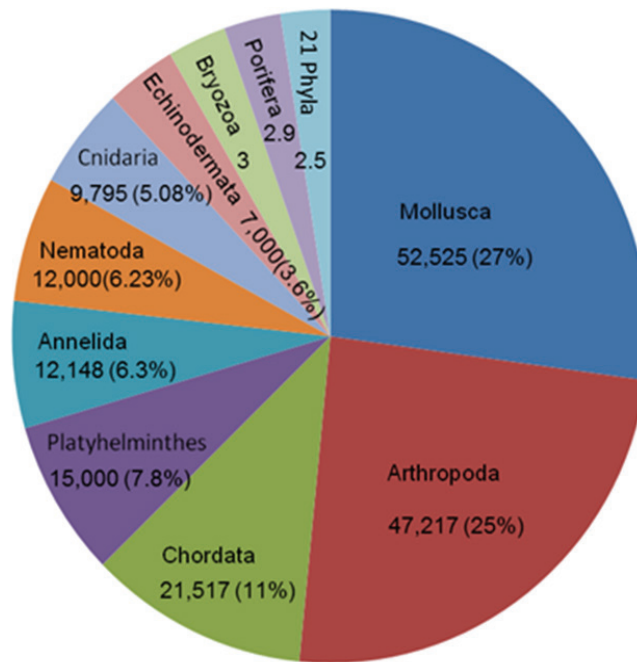


Figura 1. Se presenta el total y el porcentaje de las especies de animales marinos de cada uno de los 31 phyla. Todas las especies conocidas de animales marinos se considera que son 192,702. Los 10 phyla con mayor cantidad de especies representan el 97.45% de la vida en los océanos y los 21 restantes suman el 2.55% de las especies (La gráfica se elaboró con datos obtenidos de la Tabla 1 de Bucklin *et al.*, 2011).

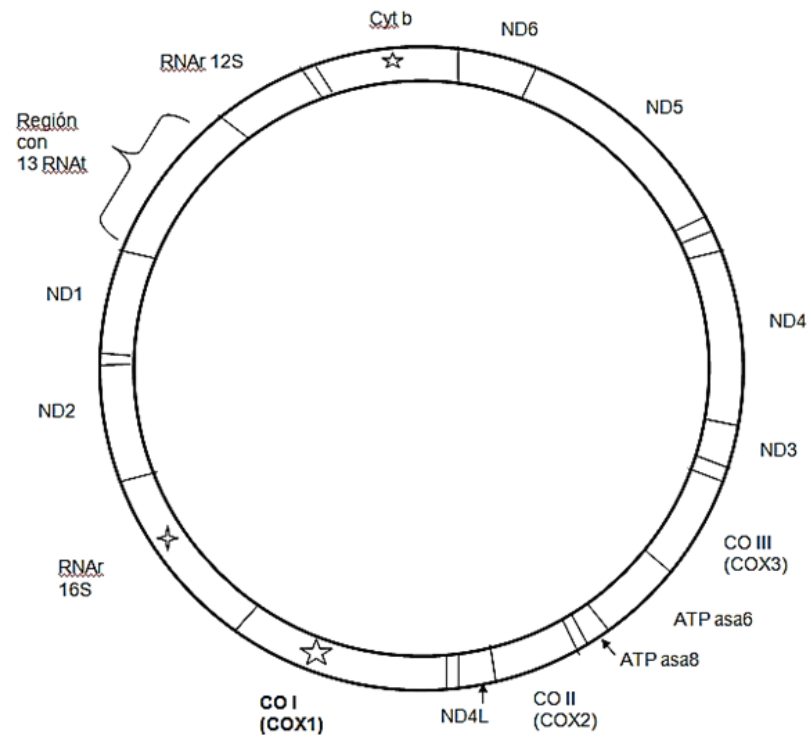


Figura 2. Esquema del genoma de la mitocondria del equinodermo *Paracentrotus lividus*, modificado de Cantatore *et al.*, (1989). Se indica con estrella grande el gen COI que es el más utilizado como código de barras de DNA y con estrella chica señala el gen de Cyt b.

El origen de los códigos de barras de DNA y su consolidación

En 1993 se publicó el primer artículo en donde se escriben las frases en inglés: *DNA barcodes, sequence barcode, barcoding PCR* y ahí mismo se introduce desde el título la palabra *barcode* (Arnot *et al.*, 1993). En 2002, se publicó el segundo artículo en el cual se presenta la frase *molecular barcodes*. En éste se hace énfasis en que se puede emplear un segmento de DNA para generar un código de barras molecular que se puede aplicar en estudios relativos a diversidad y conservación biológica (Floyd *et al.*, 2002). En 2003, se presentó la posibilidad de establecer un código de barras basado en la secuencia de los nucleótidos del gen *COI* y se resaltan las palabras *barcode* y *barcoding*. Además se propone que podrá ser utilizado de manera universal en la identificación de las especies animales, en donde la divergencia entre los individuos de una especie puede ser menor al 2% y entre los individuos de especies distintas puede superar el 10% (Hebert *et al.*, 2003a, b). En ese mismo año se expone la necesidad de que la información contenida en las colecciones de especímenes de los museos y de las numerosas colecciones de las instituciones académicas pudieran ser convertidas en formatos electrónicos y que los especímenes fueran digitalizados para así tener un sistema que incluyera la información de todas las formas de vida disponibles en el mundo. En particular, cabe destacar la propuesta para que se procesaran en este sentido a todas las colecciones científicas de India (Chavan & Krishnan, 2003). A partir de la difusión de los trabajos de Hebert *et al.* (2003a, b) de la universidad de Guelph, Canadá, se inicia una discusión amplia e intensa sobre la utilidad del concepto *DNA barcoding* y su aplicación masiva en el estudio de la biodiversidad y en diversas actividades en donde se pretendiera identificar en el nivel de especie a los organismos que fuesen el objeto de la investigación.

El fragmento de *COI* que se ha utilizado para la identificación de especies animales en ocasiones se ha puesto a prueba y no siempre se logran identificar con precisión las especies que son muy cercanas en el sentido filogenético. Cognato (2006) al realizar 62 comparaciones de secuencias de distintas especies de insectos de importancia económica, detectó que los resultados se empalmaban en 28 comparaciones, lo cual indicó que era dudosa la identificación de las especies en el 45% de los casos estudiados. Los análisis y resultados de Cognato (2006) son controvertidos, pero representan una corriente académica que sugiere que los códigos de barras de DNA pueden generar incertidumbre. En esponjas también se han detectado dificultades para la identificación de especies a partir del fragmento de *COI* (Erpenbeck *et al.*, 2006). En contraste, otros reportes mencionan las bondades de la integración de los estudios mor-

fológicos y ecológicos con los datos aportados por los códigos de barras de DNA, que permiten descubrir especies nuevas (Hebert *et al.*, 2004), así como la aplicación de *COI* para identificar especies de artrópodos que son plagas (29 *et al.*, 2010).

En el presente es posible afirmar que *DNA barcoding* significa algo más que un concepto nuevo ya que está sostenido en técnicas y procedimientos estandarizados. En 12 años se ha convertido en una corriente académica productiva que tiene aplicaciones en varias disciplinas como: estudios de biodiversidad, ecología, conservación biológica, identificación de especies en los mercados de alimentos, detección oportuna de especies de plagas, por citar algunas. Es un avance tan popular en Biología y disciplinas afines que, cuando se analizó el número de los artículos publicados entre 2004 y 2011 que incluyeron en el texto las palabras *barcodes* y *DNA barcodes*, se localizaron más de 1000 en sólo siete años, a pesar de que se había criticado su contribución al conocimiento de la biodiversidad por el hecho de que en algunos grupos de organismos es difícil la identificación de las especies (Ebach, 2011; Teletchea, 2010). Este avance científico es muy conocido puesto que ha sido el centro de congresos internacionales y del desarrollo de proyectos multinacionales. Sin embargo, no todos los países han contribuido de manera proporcional a la magnitud de su economía y capacidad científica; por citar algunos contrastes de las aportaciones de varios países al conocimiento de los códigos de barras de DNA están: Canadá que es el país que más ha contribuido y Estados Unidos en la segunda posición, a pesar de que es la potencia número uno. Costa Rica que es un país pequeño y en vías de desarrollo está en la posición cuatro, en tanto que Reino Unido que es un país desarrollado está ubicado en la posición 24. En la figura 3 se compara el grado de participación que han tenido 28 países en la generación de los códigos de barras de DNA. México que está en la posición 11 es uno de los países con mayor biodiversidad del planeta y su aportación pudiera ser más alta ya que existen varios centros que realizan esta actividad, entre los que destacan: ECOSUR en Chetumal, Instituto de Biología de la UNAM, en México, DF, CIBNOR en la Paz, BCS; y hay diversas instituciones mexicanas que tienen personal académico capacitado y laboratorios bien equipados, de manera que pudieran realizar los códigos de barras de DNA que desearan, pero tal vez sus actividades académicas no lo requieran. Un hecho sobresaliente es la colaboración multinacional, ya que a pesar de las grandes diferencias que existen entre los países en aspectos como: economía, inversión en ciencia y desarrollo científico, también existe una interacción fuerte orientada a aumentar el conocimiento de la biodiversidad mediante la utilización de los códigos de barras de DNA y de diversos marcadores genéticos.

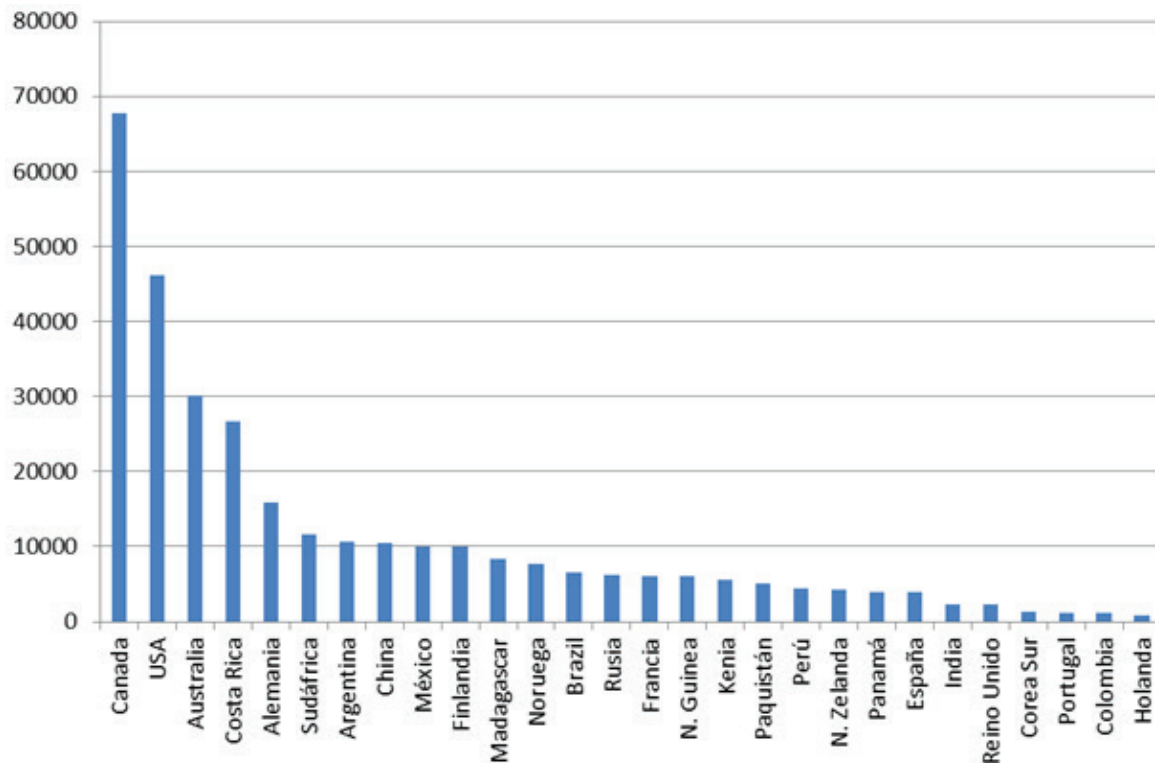


Figura 3. Se muestra la cantidad de BINs (Barcode Index Number (BIN) System) que han aportado diversos países al sistema BOLD. BINs significa el número de agrupamientos de secuencias de DNA (códigos de barras de DNA) que están estrechamente relacionadas a una especie bien caracterizada. En la gráfica se aprecia que varios países ricos contribuyen poco en relación a su nivel de desarrollo científico, destaca la contribución contrastante de Costa Rica, posición 4 y Reino Unido en la 24.

Los métodos utilizados en los códigos de barras de DNA

Los códigos de barras de DNA (**DNA barcodes**) se logran mediante la aplicación de diversos procedimientos tales como: Obtención de muestras de especímenes, extracción y purificación de DNA, aumento del número de copias de una secuencia específica del gen mitocondrial **COI** que es el estándar para animales (Fig. 2), mediante PCR, secuenciación de los fragmentos de DNA y la conversión de las secuencias de las bases del DNA en un conjunto de barras verticales de colores, donde cada barra representa una base (C = azul, T = rojo, A = verde, G = negro). La longitud del fragmento del gen puede variar, pero la más utilizada es de 650 bases (Fig. 4). Después se analizan y procesan las secuencias de DNA por medio de métodos bioinformáticos que incluyen el ensamblaje y la edición de las secuencias hasta tenerlas verificadas al 100%, comparación con secuencias similares que se localizan en las bases de datos, para lo cual se emplean técnicas de alineamiento local y global. Una vez que se tienen las secuencias verificadas pueden procesarse para construir árboles filogenéticos básicos, medición de la variación interindividual y distancias interespecíficas en las especies estudiadas, entre otros análisis. Algunos autores incluyen en sus investigaciones genes mitocondriales adicionales, por ejemplo: **Cyt**

b, **16S RNAr** y **12S RNAr** (Fig. 2) y varias secuencias nucleares. Los métodos mencionados son explicados con amplitud en diversos textos, entre los que destacan tres clásicos: *Molecular markers, natural history and evolution* (Avice, 2004), *Molecular Zoology: Advances, Strategies and Protocols* (Ferraris & Palumbi, 1996) y *Molecular Systematics* (Hillis et al., 1996).

Los códigos de barras de DNA en la base de datos bold systems

La base de datos denominada **Barcode of Life Data Systems v3 (BOLD Systems V3)** es la más grande del mundo ya que ordena y almacena la mayor cantidad de marcadores de especies. Sin embargo, **BOLD** no contiene toda la información de marcadores genéticos de especies que están en otras bases como **GenBank**, del **National Center for Biological Information Database (NCBI)** que es la mayor base de datos de todas las secuencias de DNA, RNA y proteínas de todas las formas de vida, ni tampoco de bases de datos más pequeñas pero importantes como **Korea Barcode of Life Database (KBOL)**. Una aportación interesante que resuelve el problema de la distribución de la información en bases de datos separadas es la construcción de otra distinta que integra los marcadores incluidos en **BOLD**, **NCBI** y **KBOL**, en donde anotaron todos los datos, evitaron

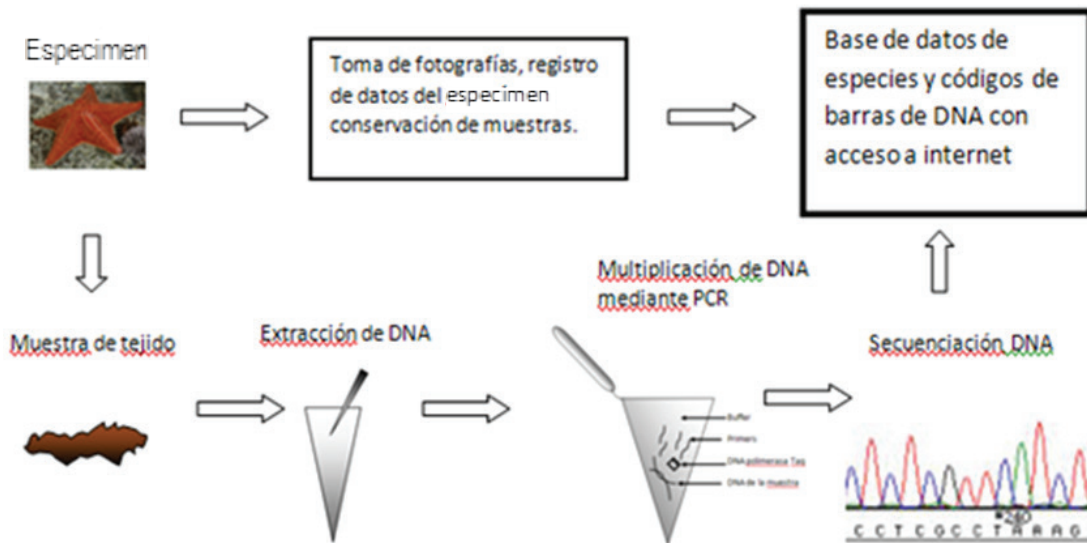


Figura 4. Diagrama de flujo que inicia en la captura de un espécimen de una especie, se recopilan datos y se toman fotografías que se envían a las bases de datos. En el laboratorio se extirpa un fragmento de tejido, al que se le extrae y purifica el DNA, se aplica PCR para lograr una cantidad grande de fragmentos de un gen por ejemplo COI, después se hace la secuenciación del DNA, y se envía a la base de datos con el fin de establecer si corresponde a una especie de la cual se tuviera registro, si así ocurre entonces se podrá asignar una identificación de especie.

la duplicación y como resultado obtuvieron una nueva bases de datos que contiene 622913 marcadores moleculares que permiten identificar 104487 especies. Entre los marcadores se encuentran 5320 que facilitan la identificación de 2326 especies coreanas (Baek *et al.*, 2013). Este tipo de esfuerzos nacionales, facilitan las actividades de las personas interesadas en la biodiversidad de los distintos países y constituye una experiencia que es conveniente analizar en México. En la Tabla 1 se presentan varias bases de datos como **BOLD** y **GenBank** y organizaciones como **International Barcode of Life Project (iBOL)** y **Consortium for the Barcode of Life (CBOL)** que contribuyen al conocimiento de la biodiversidad y que reúnen información valiosa de acceso libre.

La enorme base de datos canadiense **BOLD** contiene hasta abril del 2015 el siguiente número de especímenes (Fig. 5): animales (4852068), plantas (381442), hongos (118878) y protistas (202014). Los animales marinos y terrestres que cuentan con más especímenes registrados son: artrópodos con 4147646 (86%), cordados 450277 (9.28%) y moluscos 116443 (2.4%); juntos representan el 97.68% (Fig. 6). La consulta realizada en **BOLD** en septiembre del 2015 indica que hay 4380159 registros de secuencias que se consideran códigos de barras de DNA; en esta cifra están incluidas las secuencias de varios individuos de una misma especie. Todas esas secuencias fueron agrupadas en 420545 racimos o *clusters* de secuencias relacionadas directamente con una especie (**BINs**). Del total de especies bien descritas que cuentan con un código de barras de DNA, corresponden 163649 a animales, 62509 a plantas y 20136 a hongos y otras formas de vida

(Fig. 7).

La tarea de determinar los códigos de barras de DNA que sean efectivos aún no está concluida, aunque existen avances destacados si se considera que en 2010 se estimaba que existían 1900000 especies descritas de las que correspondían 1400000 a animales, 380000 a plantas, varias decenas de miles a hongos y un número difícil de estimar de especies que no se habían descrito. De estas especies 229602 correspondían a animales y plantas de mar (Radulovici *et al.*, 2010).

El rápido desarrollo del sistema **BOLD** que concentra los códigos de barras de DNA se muestra en la figura 8a en donde resulta notable el avance, cuando se comparan las cifras de 2009 con las de 2015. Los datos indican que en 2009 se conocían 529228 secuencias de DNA asociadas a una especie; en esa cifra se incluyen a numerosas especies de las se conocen las secuencias de muchos de sus individuos, pero sólo 56037 secuencias de DNA pudieron estar muy relacionadas con especies bien caracterizadas en tanto que a 19872 especímenes de especies inciertas con secuencias conocidas se les asignó un nombre de especie interina, porque su situación taxonómica no estaba definida. En 2015 la cifra de secuencias relacionadas con una especie aumentó a 2070444 de las que 162892 correspondía a especies bien definidas y 61604 a especies interinas. En la figura 8b solo se presentan los datos de los códigos de barras asociados a especies bien caracterizadas y se comparan con los de especies interinas, en donde destaca el hecho que del total de secuencias, entre el 26 y el 30% está asociado a especies interinas, lo que sugiere que el desarrollo tecnológico que

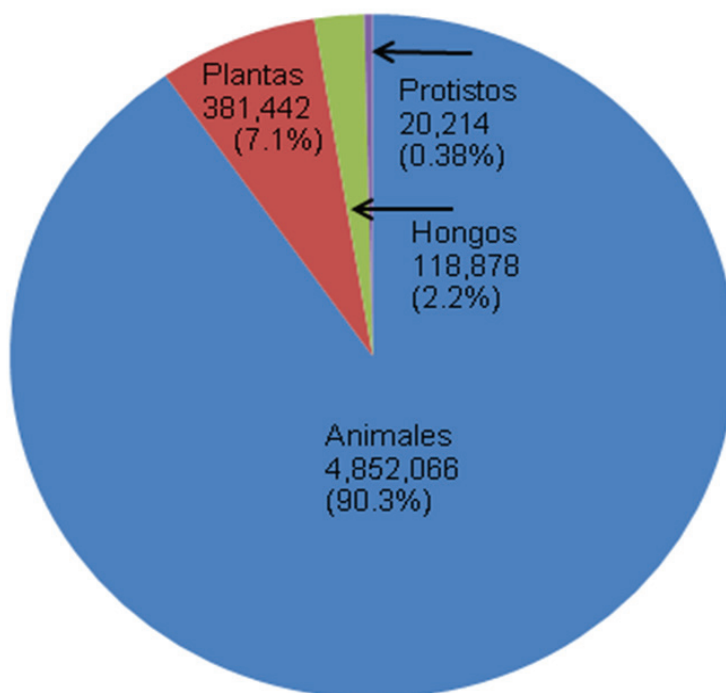


Figura 5. Se muestra el total de registros de especímenes de todas las especies marinas y terrestres que se encuentran en BOLD Systems v3, consultado el 28 de abril de 2015 en <http://www.boldsystems.org/>.

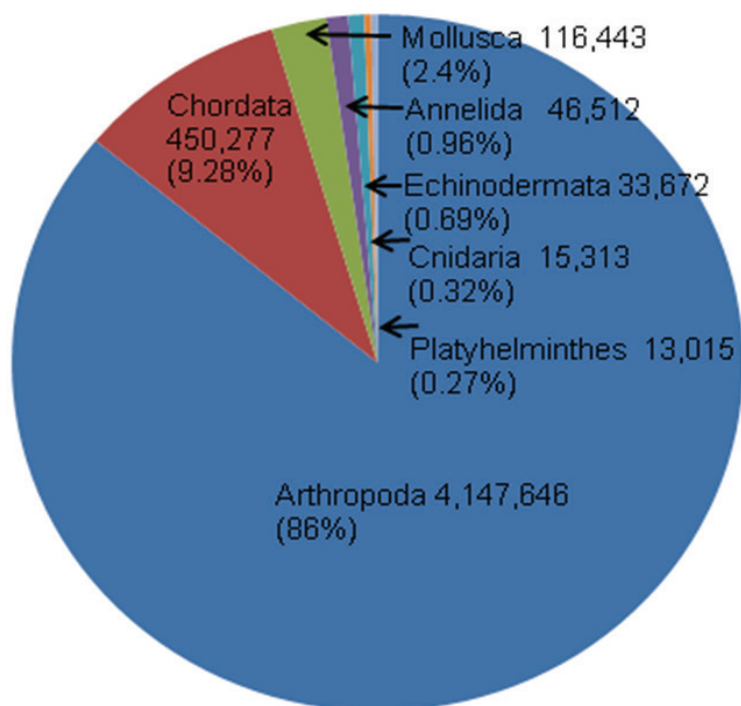


Figura 6. Los 7 phyla de animales marinos y terrestres que tienen un número mayor de especímenes registrados en Bold Systems representan el 99.4% en tanto que los 17 phyla restantes sólo suman 0.6 %. Consultado el 28 de abril de 2015 en <http://www.boldsystems.org/>.

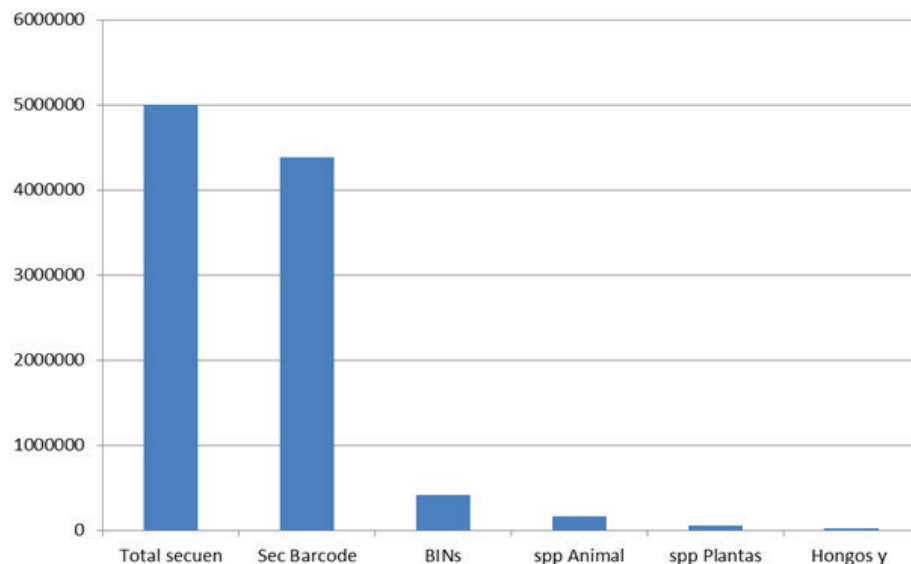


Figura 7. Números de secuencias clasificadas como: El total de secuencias registradas en BOLD (Total secuen), las secuencias que son código de barras para especies bien identificadas y que incluyen las secuencias de varios especímenes de una especie (Sec Barcode), el agrupamiento ó “cluster” de secuencias asociadas estrechamente a una especie bien caracterizada (BINs), el total de especies descritas formalmente (spp Animal), (spp Plantas) y (Hongos y) que sólo tiene 20,136 y por esa razón no se aprecia la barra en la figura. Datos tomados de BOLD Systems el 4 de septiembre de 2015 en <http://www.boldsystems.org/>.

permite hacer una rápida acumulación de secuencias bien realizadas no es suficiente para resolver el problema de las especies interinas.

Aplicaciones del código de barras de DNA en animales marinos

En 2011 se aceptaba que existían 192702 especies de animales marinos clasificados en 31 phyla, entre ellos los que destacan por su diversidad de especies son: moluscos (27%), artrópodos (25%), cordados (11%), platelmintos (7.8%), anélidos (6.3%) y nemátodos (6.23%). La suma de los porcentajes de las especies de los seis phyla citados constituye el 83.33% de la vida animal de los océanos (Fig. 1). Al analizar el porcentaje de las especies que contaba con registro de código de barras de cada uno de los 31 phyla de animales marinos, se observó que en 9 phyla las especies carecían de uno; en 8 phyla sólo se contaba con los **códigos del 0.4 al 4.2% de las especies y en 7 phyla el porcentaje de especie con códigos era del 5 al 10%**. Estas cifras indicaban que se conocían los códigos de barras del 10% o un porcentaje menor de las especies incluidas en 24 de los 31 phyla de metazoarios marinos; es decir, que sólo 7 phyla tenían registrados los códigos para un porcentaje superior al 10% de sus especies. Al examinar los 6 phyla que agrupan a más de 10000 especies cada uno, son evidentes los contrastes; por ejemplo: cordados incluyen a 21517 especies y se conocían los códigos de barras del 33.8% de sus especies, moluscos con 52525 especies contaba con los códigos del 9.2% y artrópodos con 47217 especies tenían registrados los códigos para el 7.6% de las especies; en contraste, era conocido que platelmintos incluían a 15000 especies pero sólo al 0.8% se les tenía código

de barras; los nemátodos incluyen 12000 especies y se conocían los códigos para el 1.5%, y los anélidos con 12148 especies contaban con códigos el 5.2% de especies (Fig. 9) (Bucklin *et al.*, 2011).

Los códigos de barras de DNA y otros marcadores genéticos facilitan la identificación precisa de las especies de los peces importantes en los aspectos **económico y alimentario**, lo que es central para regular las actividades pesqueras, evitar la sobreexplotación y favorecer la conservación de las especies. En un estudio realizado con 50 especies de peces europeos, se aplicó como código de barras de DNA la secuencia del gen **COI**, además se incluyeron los genes **Cyt b** y **16S** y se combinaron con la técnica de microarreglos (**microarrays**) para comparar la eficiencia en la identificación de especies. Los resultados destacan que los genes **COI** y **Cyt b** permiten identificar todas las especies sin duda alguna, en cambio 16S falla en identificar dos especies muy cercanas. También se muestra un avance importante en el desarrollo de los microarreglos de DNA, ya que con unas pruebas que contienen 64 oligonucleótidos lograron identificar 30 de las 50 especies, con lo cual se indica el potencial de otro método automatizado que puede aplicarse en la identificación de peces adultos, en el estudio de la diversidad de ictioplancton y en productos de peces comercializados. Con esta información se reconoce la utilidad del código de barras basado en COI y su complementación con Cyt b (Kochzius *et al.*, 2010).

El océano del hemisferio sur representa el 10% de los océanos del planeta pero contiene sólo el 1.5% de los peces marinos y la diversidad de su fauna es poco conocida. A pesar de ser una región poco

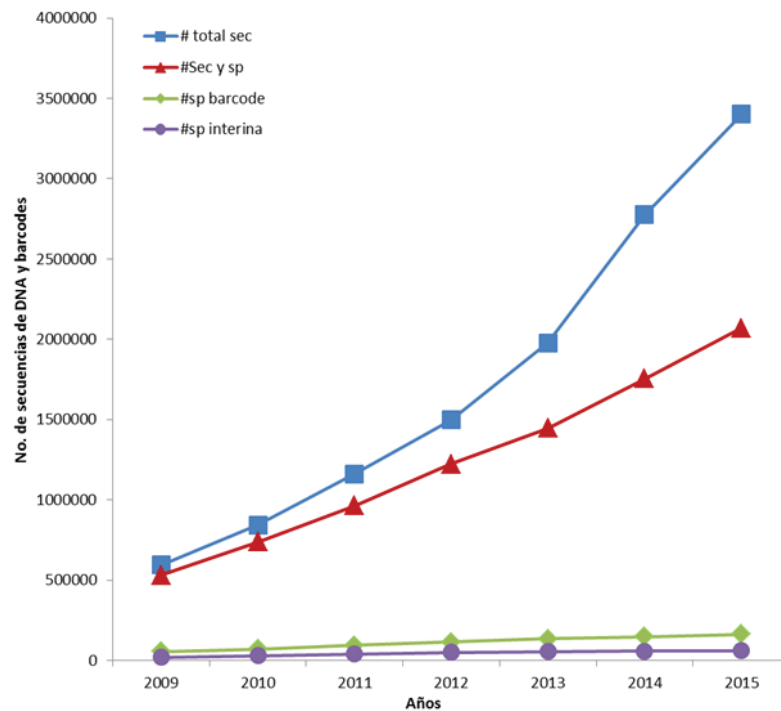


Figura 8a. En azul se muestra la producción total de secuencias de DNA. El rojo (triángulos) representa la generación de secuencias asociadas a especies, pudiendo existir numerosas secuencias de individuos de una especie. El verde (cuadros) señala el crecimiento constante de la relación entre especies bien identificadas y un código de barras. El púrpura indica las especies interinas. Las cifras se obtuvieron de BOLD Systems v3, consultada el 28 de abril de 2015 en <http://www.boldsystems.org/>.

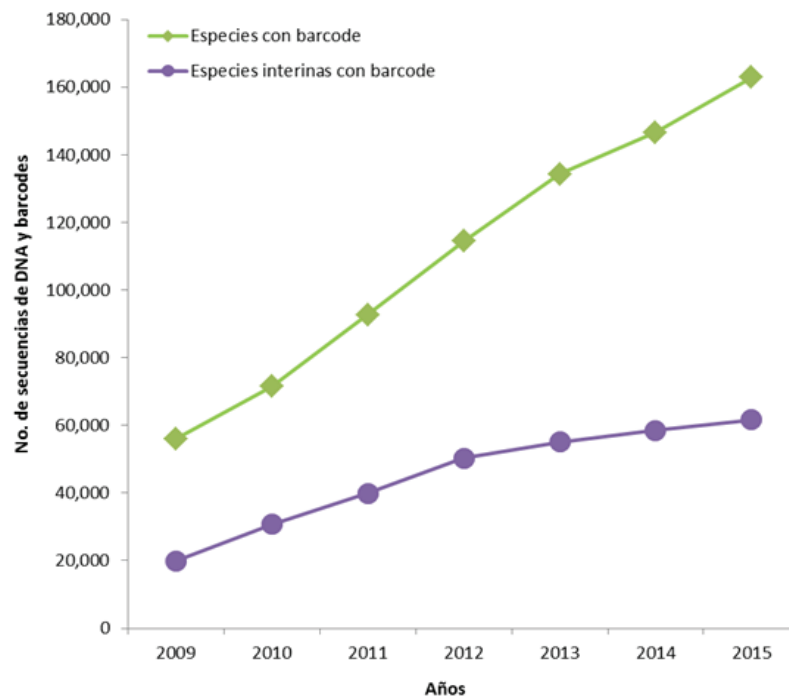


Figura 8b. Comparación entre el número de especies bien identificadas que tienen un código de barras de DNA (rombos), y el número de las especies interinas que poseen un código de barras (círculos). Los datos provienen de la consulta a BOLD Systems v3, el 28 de abril de 2015, <http://www.boldsystems.org/>

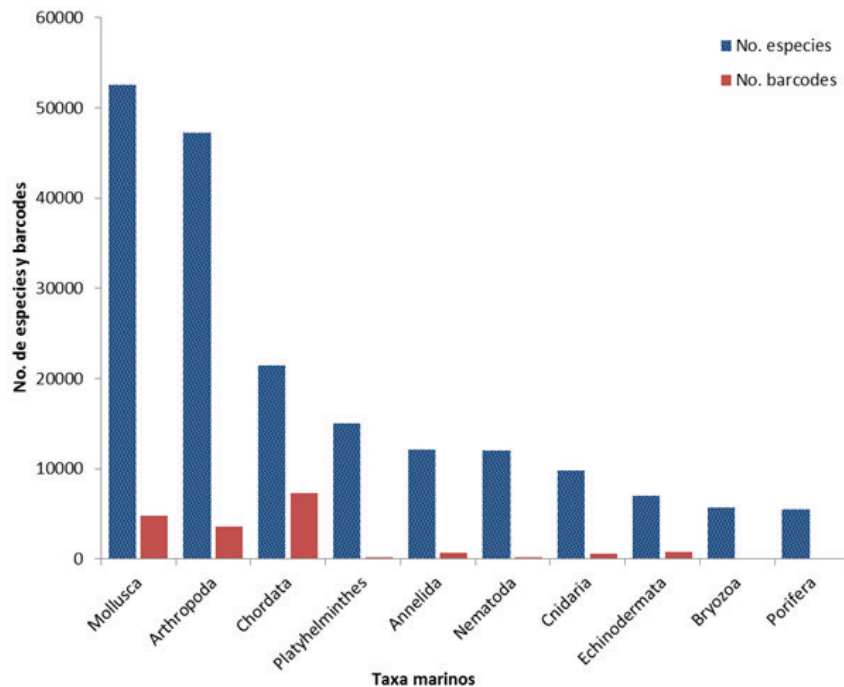


Figura 9. En azul (puntos) se indica el número total de especies marinas de los diversos phyla y en rojo (sólido) el de especies que cuentan con un código de barras de DNA. La gráfica se elaboró con datos obtenidos de la Tabla 1 de Bucklin *et al.* (2011).

explotada en pesquerías, existe la pesca comercial y se ha evidenciado que la diversidad de peces está subestimada dado que mediante el uso de secuencias de DNA se demostró que existían especies crípticas en el Mar de Ross. En el caso de la especie *Ophthal-molycus amberensis* se registró una divergencia superior al 2% cuando se compararon los especímenes del Mar de Ross con los de la región Antártica de Australia, lo cual indica que pueden ser especies crípticas. Otros casos de especies crípticas potenciales se observaron en las especies *Notolepis coatsi* y *Gymnoscopelus bolini*; esta sugerencia proviene de la presencia de una divergencia alta al hacer comparaciones intraespecíficas (Smith *et al.*, 2012).

Aunque los arrecifes de coral son de los ecosistemas más diversos es desconocida su biodiversidad real y dado que se encuentran en diversas regiones del planeta, también se desconoce cuál es su nivel de endemismo. En estos ecosistemas existen una gran cantidad de fauna pequeña difícil de localizar, capturar e identificar, ya que contienen las diversas fases del desarrollo de las especies, en particular las tempranas y juveniles. Con el fin de identificar la micro y criptofauna de los arrecifes se utilizó un fragmento de 414 pb del gen COI para analizar 556 individuos pertenecientes a dos especies de anfípodos (*Leucothoe ashleyae* y *Leucothoe kensleyi*) que son comensales de la esponja *Callyspongia vaginalis*. Las muestras que se obtuvieron de Florida y del Caribe, brindaron resultados sobresalientes que indican la existencia de 11 linajes muy divergentes de los que siete corresponden a *L. ashleyae* y cuatro

a *L. kensleyi*. Se sospecha que existen varias especies crípticas puesto que se registraron divergencias genéticas muy elevadas comprendidas entre el 12.4 y el 26%, que son las mayores registradas en crustáceos marinos (Richards *et al.*, 2012).

El código de barras también se aplican en la identificación de especies amenazadas, en su comercialización ilegal y en la identificación de especies cuya carne y sus derivados pueden ser riesgosos para el consumidor. En una investigación que incluyó 68 muestras de sushi de atún de 31 restaurantes de Manhattan, NY y de Denver, Colorado, se identificó que 5 muestras de sushi vendidas como albacora (*Thunnus alalunga*) poseían secuencias de COI que correspondían a la especie *Lepidocybium flavorunneum* cuya venta está prohibida en Italia y Japón, porque representa un riesgo para salud humana. Otras 19 muestras correspondían al atún aleta azul del norte (*T. thynnus*) o al atún aleta azul del sur (*T. maccoyii*), especie considerada como amenazada; situación desconocida por los responsables de los restaurantes (Lowenstein *et al.*, 2009). En dicho estudio se desvelaron tres situaciones comerciales irregulares: 1) la venta de especies que pueden enfermar al consumidor, 2) posesión y venta de especies amenazadas y 3) fraude, por ofertar una especie y entregar otra.

Lowenstein *et al.* (2010) usaron secuencias de COI para identificar las especies de diversas muestras de carne de atún en las que previamente se midió la cantidad de mercurio; así, se reveló como riesgosos para la salud humana los niveles

de mercurio detectados en las distintas especies de atún aleta azul (*Thunnus maccoyii*, *T. orientalis* y *T. thynnus*) y en el atún "Bigeye" (*T. obesus*). En cambio los niveles más bajos fueron observados en el atún aleta amarilla (*T. albacares*), por ello los autores recomiendan que la agencias de salud realicen la advertencia del riesgo para los consumidores de la carnes de las especies citadas.

Con el fin de verificar si las etiquetas de peces vendidos en los mercados eran correctas, Hanner *et al.* (2011) procesaron 254 muestras de peces vendidos en cinco ciudades de Canadá y lograron obtener las secuencias de COI de 236 muestras que representan el 93% del total. Los resultados indicaron que el 41% tenía etiquetas incorrectas ya que se ofrecía una especie y el contenido correspondía a otra. En este caso se logró identificar fácilmente a nivel de especie la mayoría de las muestras, aunque en varios casos resultó difícil porque no existía semejanza entre las secuencias del DNA de las muestras y las especies bien reconocidas por los taxónomos; un tercer grupo de resultados mostró que en los complejos de especies cercanas la información era incierta, ya que las secuencias empleadas tuvieron una resolución deficiente. A pesar de todo, quedó demostrada la utilidad del uso del DNA para identificar la diversidad de especies etiquetadas de manera correcta y las comercializadas de manera irregular.

Las esponjas constituyen un reto grande para quienes estudian código de barras de DNA, ya que al procesar 3360 especímenes se logró la amplificación exitosa de COI desde el 0% hasta el 55%, con un promedio del $27 \pm 17\%$; esto significa que hubo 26 reacciones de PCR positivas de un total de 96 reacciones. En la secuenciación del COI obtenido se observó que el 40% de las secuencias correspondían a grupos taxonómicos diferentes a las esponjas. Esto indica un grado de dificultad elevado si se compara con el éxito que se tiene con los cordados (Vargas *et al.*, 2012).

Este mismo procedimiento basado en el gen COI, aunque con la adición del gen 12S RNAr fue utilizado para estudiar 21 especies comerciales del Río Amazonas, lo que facilitó su identificación precisa. Además, fue esclarecido que los peces que se venden con el nombre popular "Acará" en realidad está conformado por siete especies distintas, aunque son explotadas como una, por lo que es imposible determinar cuál es la explotación real de cada especie (Ardura *et al.*, 2010).

La utilización del COI en especies con distribución en México

El gen COI se ha utilizado para identificar animales marinos cuya distribución incluye las costas de México. Varios años antes de que se estableciera el concepto de **DNA barcodes** y de que se utilizara ampliamente el gen COI para la identificación de especies animales, Arndt *et al.* (1996) realizaron

un proyecto con el objetivo de esclarecer dudas taxonómicas y establecer las relaciones filogenéticas de 16 especies de pepinos de mar distribuidas desde Baja California hasta Alaska. Para lograr el propósito primero se identificó a los especímenes mediante procedimientos de taxonomía clásica y después se analizaron las secuencias de 870 pb de COI y de 350 pb de **16S RNAr**. Entre los resultados destaca la demostración de que las especies *Cucumaria pseudocurata* Deichmann y *C. curata* Cowles eran distintas y que no representaban variaciones geográficas de una especie. En contraste, al comparar dos especímenes de *Eupentacta quinquesemita*, uno de color crema recolectado en Barkley Sound, Canadá y el otro rojo de Ensenada, Baja California, mostraron una diferencia de 0.3% en 870 pb que corresponde a las diferencias interindividuales de *C. miniata*; en tanto que la distancia estimada entre dos especies es de 10.8 a 12.2%. También quedó fundamentada la descripción de la especie *C. pallida* como distinta de *C. miniata*. Dicho trabajo fue una de las referencias que Hebert colocó en el sitio de internet de su laboratorio en 2003, cuyo título fue **Barcodes of Life** y con el subtítulo **Barcoding Animal Life**. A la fecha se continúa utilizando el mismo fragmento de COI como base para la identificación de los holotúridos en diversas regiones del mundo (Uthicke *et al.*, 2010).

En los arrecifes de coral del Caribe mexicano se encuentra la especie invasora *Pterois volitans* conocida como pez león, que causa preocupación porque es un gran depredador y hasta años recientes se desconocía cuáles eran las especies que más consumía. Para abordar este problema, Valdez-Moreno *et al.* (2012) utilizaron secuencias del gen COI para analizar los fragmentos contenidos en el tracto digestivo de 157 especímenes del pez león capturados en el Caribe. Las secuencias de DNA de los fragmentos estomacales se compararon con las secuencias localizadas en las bases de datos **BOLD** y **GenBank**; lograron identificar cinco órdenes, 14 familias, 22 géneros y 34 especies de peces; algunas de importancia comercial. También obtuvieron del contenido estomacal 45 fragmentos de crustáceos cuyas secuencias de DNA, permitieron reconocer 20 grupos taxonómicos que pertenecieron principalmente a decápodos, al ser comparadas en las bases de datos citadas pero de ellos sólo se identificó un taxón en el nivel de especie *Euphausia americana*.

Valdez-Moreno *et al.* (2010) estudiaron la diversidad de los peces presentes en la costa de la Península de Yucatán mediante el uso de la secuencia de COI con los objetivos de: comprobar si el código de barras permitía identificar las especies, si había factible una conexión entre las fases de huevo, larva y adulto en las diferentes especies de peces, y determinar la manera en que la identificación correcta puede ayudar en el manejo de las pesquerías y su conservación. Analizaron las secuencias de COI

provenientes de 1392 especímenes, que incluyeron 610 adultos y juveniles, 757 larvas y 25 huevos, que correspondieron a 181 especies. A partir de los huevos se identificaron seis especies y de las larvas a 34 especies mediante una comparación de las secuencias de COI con las de los especímenes adultos. El código de barras también permitió distinguir por primera vez las larvas de cuatro especies de *Eucinostomus*, aportó información nueva sobre localidades y tiempos de desove de una especie comercial del Caribe *Lachnolaimus maximus* y mostró que en las competencias de pesca deportiva ocurrían errores en la identificación de algunas especies.

Los microcrustáceos conforman un caso particularmente difícil; son organismos de tallas pequeñas que se distribuyen en los ambientes acuáticos y constituyen una parte importante de la biomasa de comunidades como el plancton con un papel destacado en las redes tróficas, pero en ocasiones existen dificultades para identificarlos a nivel de especie. En el caso de los cladóceros dulceacuícolas de México, se utilizó la secuencia de COI como herramienta para identificar especímenes del género *Leberis* de varias localidades mexicanas en donde fue posible conocer que existen dos especies: una es *L. davidi* cuya distribución es amplia en el continente y la otra es *L. chihuahuensis* que está restringida al norte de México (Elías-Gutiérrez & Valdez-Moreno, 2008). A pesar del éxito logrado en la identificación de dos especies de *Leberis* un hecho reconocido por quienes trabajan con microcrustáceos es que existen grupos donde es difícil amplificar el gen COI. Por esta razón Prosser *et al.* (2013) diseñaron y probaron un conjunto de cebadores ("primers") para aumentar la cantidad del gen COI mediante PCR de diversos grupos de microcrustáceos entre los que se encuentran Macrothrix, Scapholeberis y Diaphanosoma. Con los cebadores nuevos incrementaron en 70% el éxito en la amplificación de COI de Sididae y Chydoridae y 80% en grupos como Daphniidae, Moinidae, Diaptomidae y varios más cuya distribución incluye México.

COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

Una de las contribuciones más importantes de BOLD es su conexión con el proyecto Enciclopedia de la Vida (Encyclopedia of Life) que reúne información dispersa en bases de datos de las distintas formas de vida y la dar a conocer de manera gratuita para que sea consultada por las personas, agrupaciones e instituciones públicas y privadas que tengan interés en el tema de la biodiversidad. En este aspecto la aplicación es de carácter educativo porque contribuye a generar un ámbito con personas más informadas de la coexistencia entre todas las especies.

En México se han realizado diversas reuniones para difundir las bondades que los avances como los Códigos de Barras de DNA tienen para ampliar

el conocimiento de la diversidad biológica en diferentes contextos académicos, como el taller **Bases de datos de los códigos de barra de la vida** realizado en la FES-Iztacala, UNAM en el marco del Congreso Nacional de Genética 2010 (Márquez *et al.*, 2010) y el que se llevó a cabo en la Universidad de las Américas en Cholula, Puebla, como uno de los talleres del Congreso Nacional de Genética 2011, en donde se amplió el tema para cubrir aspectos como: diversidad en las poblaciones, identificación de linajes maternos y paternos, así como en la identificación de especies y su diversidad, que llevó por título: **Códigos de barras de DNA y marcadores moleculares** (Márquez, 2011). En ese tipo de talleres se explica la utilidad del fragmento del gen COI, en donde se reconoce que es un auxiliar en la identificación de especies animales, pero que no reemplaza la experiencia del taxónomo y no siempre facilita la identificación de los especímenes hasta el nivel de especie. También es aclarado que no permite resolver problemas de hibridación ya que sólo identifica el linaje materno, por lo que el lado paterno queda sin conocerse y solo puede complementarse con marcadores genéticos nucleares. Tampoco facilita la distinción entre grupos de individuos de la misma especie, porque la divergencia genética entre un grupo y otro puede ser de menos del 2% que está en el rango de la variación interindividual de la especie. El fragmento de COI es insuficiente para resolver diversas preguntas relativas a la evolución de la especie, tales como: ¿Cuáles especies son ancestros directos de la que es el objeto de estudio? ¿Tiene especies hermanas o es especie única? ¿Cuáles especies son sus descendientes? ¿La especie en cuestión se ha diversificado a nivel de razas y variedades? ¿Cuál es el centro de origen y cómo ocurrió la distribución geográfica de la especie que se estudia? ¿Cuál es la tasa de evolución de la especie y sus poblaciones? ¿Es una especie amenazada o está en buenas condiciones? Para poder resolver interrogantes como las anteriores se requiere que se utilicen secuencias adicionales de otros genes, tanto nucleares como mitocondriales, así como métodos diferentes por ejemplo mediante el uso de microsatélites.

Además, conviene realizar las comparaciones con segmentos de mayor longitud del genoma ya que pueden revelar más información que los fragmentos cortos de los genes, lo cual en el presente es posible ya que el avance tecnológico ha conducido a que se obtengan en poco tiempo las secuencias de los genomas mitocondriales completos y no sólo el fragmento de un gen. A la fecha se conocen las secuencias completas del DNA mitocondrial de diversas especies de animales marinos; en la Tabla 2 se muestran 24 de ellas, en donde destaca la variación en la longitud de pares de bases. Aunado a lo anterior, resulta oportuno aprovechar las técnicas como la de microarreglos, las de secuenciación rápida y masiva, denominadas genéricamente para sus dife-

Tabla 2. Genomas mitocondriales completos de 24 especies de animales marinos con diversidad en la longitud.

Phylum/clase	Especie	DNA/pb	Autores
Crustáceos	<i>Gonodactylus chiragra</i>	16,279	Swinstrom <i>et al.</i> , 2005
	<i>Lysiosquilla maculate</i>	16,325	Swinstrom <i>et al.</i> , 2005
	<i>Squilla empusa</i>	15,828	Swinstrom <i>et al.</i> , 2005
	<i>Squilla mantis</i>	15,994	Cook <i>et al.</i> , 2005
	<i>Harpiosquilla harpax</i>	15,714	Miller & Austin, 2006
	<i>Oratosquilla oratoria</i>	15,783	Liu & Cui, 2010a
	<i>Penaeus monodon</i>	15,984	Wilson <i>et al.</i> , 2000
	<i>Symphylella</i> sp.	14,667	Gai <i>et al.</i> , 2008
	<i>Charybdis japonica</i>	15,738	Liu & Cui, 2010b
	<i>Exopalaemon carinicauda</i>	15,730	Shen <i>et al.</i> , 2009
	<i>Litopenaeus vannamei</i>	15,990	Shen <i>et al.</i> , 2007
	<i>Fenneropenaeus chinensis</i>	16,004	Shen <i>et al.</i> , 2007
	<i>Euphausia superba</i>	15,498	Shen <i>et al.</i> , 2010
Equinodermos	<i>Paracentrotus lividus</i>	15,697	Cantatore <i>et al.</i> , 1989
	<i>Apostichopus japonicas</i>	16,096	Shen <i>et al.</i> , 2009
	<i>Phanogenia gracilis</i>	15,892	Scouras & Smith, 2006
	<i>Gymnocrinus richeri</i>	15,966	Scouras & Smith, 2006
Moluscos	<i>Aplysia californica</i>	14,117	Knudsen <i>et al.</i> , 2006
	<i>Pupa strigosa</i>	14,189	Kurabayashi & Ueshima, 2000
	<i>Lunella</i> aff. <i>Cinerea</i>	17,670	Williams <i>et al.</i> , 2014
	<i>Roboastra europea</i>	14,472	Grande <i>et al.</i> , 2004
Ctenóforo	<i>Mnemiopsis leidyi</i>	10,326	Pett <i>et al.</i> , 2011
Pez teleósteo	<i>Paralichthys olivaceus</i>	17,090	Saitoh <i>et al.</i> , 2000
Pez ciclóstomo	<i>Myxine glutinosa</i>	18,909	Delarbre <i>et al.</i> , 2001

Pares de bases de DNA =pb

rentes plataformas: *next generation sequencing*, y **metagenómica**, para estudiar de forma conjunta la diversidad de especies en un ambiente dado.

La información contenida en las bases de datos como **BOLD Systems** y **GenBank** está disponible al público en general en su mayor parte, aunque existe un porcentaje de acceso restringido, pero aun así son instrumentos poderosos que facilitan el conocimiento amplio, rápido y dinámico de la diversidad de la vida. Lo anterior es de importancia central en áreas del conocimiento como Biología de la Conservación y Biodiversidad, que sólo tienen sentido si son estudiadas en un contexto evolutivo, es decir que existe un presente, que permite esquematizar rutas para hacer reconstrucciones del pasado y establecer proyecciones teóricas sólidas hacia escenarios del futuro. La idea es planteada en el mismo sentido del histórico texto de Dobzhansky (1973), cuyo título traducido es: “Nada en biología tiene sentido excepto bajo la luz de la evolución” y que en una de sus partes comenta lo siguiente: “*Vista bajo la luz de la evolución, la biología es tal vez, en un sentido intelectual la ciencia más satisfactoria e inspiradora. Sin dicha luz, ésta ciencia se convierte en una pila de hechos, algunos de ellos interesantes ó curiosos pero que no constituyen una película con un significado total*”.

AGRADECIMIENTOS

El Dr. Francisco J. Ayala de University of California-Irvine, brindó espacios agradables y un ambiente laboral estupendo durante la estancia sabática de julio de 2010 a julio de 2011. Parte de ese tiempo lo dediqué a preparar los talleres: “Bases de datos de los códigos de barra de la vida” de 2010 y “Códigos de barras de DNA y marcadores moleculares” de 2011. El Dr. Andrei Tatarenkov de University of California-Irvine contribuyó con discusiones sólidas acerca de los puntos a favor y en contra de los códigos de barras de DNA y junto con el Dr. Guillermo Bojórquez de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, impartimos el taller de 2011. El Dr. Julio V. Suárez de la UABC, apoyó con un resumen en inglés ajustado al número de palabras e hizo preguntas. Dos revisores anónimos hicieron observaciones que facilitaron mejorar el texto.

REFERENCIAS

- Ardura, A., A.R. Linde, J.C. Moreira & E. García-Vazquez. 2010. DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. *Biol. Conserv.*, 143: 1438–1443. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.03.019>
- Ardnt, A., C. Márquez, P. Lambert & M.J. Smith. 1996. Molecular phylogeny of Eastern Pacific

- sea cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea) based on mitochondrial DNA sequence. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 6: 425-437.
<https://doi.org/10.1006/mpev.1996.0091>
- Arnot, D.E., C. Roper & R.A.L. Bayoumi. 1993. Digital codes from hypervariable tandemly repeated DNA sequences in the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite gene can genetically barcode isolates. *Mol. Biochem. Parasit.*, 61: 15-24.
[https://doi.org/10.1016/0166-6851\(93\)90154-P](https://doi.org/10.1016/0166-6851(93)90154-P)
- Ausubel, J.H., D.T. Crist & P.E. Waggoner (Eds.). 2010. *First census of marine life 2010. Highlights of a decade of discovery*. Publication of Census of Marine Life, Washington, D.C., 68p.
- Avise, J.C. 1974. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.*, 23: 465-481.
<https://doi.org/10.1093/sysbio/23.4.465>
- Avise, J.C. 2004. *Molecular Markers, Natural History, and Evolution*. (Second Edition). Sinauer, Sunderland, MA. 684 p.
- Ayala, F.J. & J.R. Powell. 1972. Allozymes as diagnostic characters of sibling species of *Drosophila*. *P. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 69: 1094-1096.
<https://doi.org/10.1073/pnas.69.5.1094>
- Baek, S., I. Ha, S. Kim, S.H. Lee, H.H. Oh, D.C. Moon, W. Kim & Y. Kim. 2013. Construction of an integrated barcode database for the molecular identification of species. *BioChip J.*, 7(3): 242-246.
<https://doi.org/10.1007/s13206-013-7307-4>
- BOLD Systems v3. 2015. <http://www.boldsystems.org/>.
- Bucklin, A., D. Steinke & L. Blanco-Bercial. 2011. DNA barcoding of marine metazoa. *Annu. Rev. Mar. Sci.*, 3: 471-508.
<https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120308-080950>
- Cantatore, P., M. Roberti, G. Rainaldi, M.N. Gadaleta & C. Saccone. 1989. The complete nucleotide sequence, gene organization, and genetic code of the mitochondrial genome of *Paracentrotus lividus*. *J. Biol. Chem.*, 264:10965-10975.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)60413-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)60413-2)
- CBOL Plant Working Group. 2009. A DNA barcode for land plants. *P. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 106: 12794-12797.
- Census of Marine Life (CoML). 2015. <http://www.coml.org/>.
- Chavan, V. & S. Krishnan. 2003. Natural history collections. A call for national information structure. *Curr. Sci. INDIA*, 84: 34-42.
- Cognato, A.I. 2006. Standard percent DNA sequence difference for insects does not predict species boundaries. *J. Econ. Entomol.*, 99: 1037-1045.
<https://doi.org/10.1093/jee/99.4.1037>
- Consortium for the Barcode of Life (CBOL). 2015. <http://www.barcodeoflife.org/>.
- Cook, C.E., Q. Yue & M. Akam. 2005. Mitochondrial genomes suggest that hexapods and crustaceans are mutually paraphyletic. *Proc. Biol. Sci.*, 272 (1569): 1295-1304.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2004.3042>
- Costello, M.J., M. Coll, R. Danovaro, P. Halpin, H. Ojaveer & P. Miloslavich. 2010. A census of marine biodiversity knowledge, resources, and future challenges. *PLoS ONE*, 5 (8): e12110.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012110>
- Delarbre, C., A.S. Rasmussen, U. Arnason & G. Gachelin. 2001. The complete mitochondrial genome of the hagfish *Myxine glutinosa*: unique features of the control region. *J. Mol. Evol.*, 53:634-641.
<https://doi.org/10.1007/s002390010250>
- Dobzhansky, T. 1973. Nothing in biology makes sense except in the light of evolution. *Am. Biol. Teach.*, 35: 125-129.
<https://doi.org/10.2307/4444260>
- Erpenbeck, D., J.N.A. Hooper & G. Wörheide. 2006. CO1 phylogenies in diploblasts and the "Barcoding of Life"—are we sequencing a sub-optimal partition? *Mol. Ecol. Notes*, 6: 550-553.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01259.x>
- Ebach, MC. 2011. Taxonomy and the DNA barcoding enterprise. *Zootaxa* 2742: 67-68.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.2742.1.5>
- Eliás-Gutiérrez, M. & M. Valdez-Moreno. 2008. A new cryptic species of *Leberis* Smirnov, 1989 (Crustacea, Cladocera, Chydoridae) from the Mexican semi-desert region, highlighted by DNA barcoding. *Hidrobiológica*, 18 (1): 63-74.
- Encyclopedia of Life (EOL). 2015. <http://www.eol.org/>.
- Ferraris, J.D. & S.R. Palumbi (Eds.). 1996. *Molecular Zoology: Advances, Strategies and Protocols*. Wiley-Liss, 580 p.
- Fish barcode of Life (FISH-BOL). 2015. <http://www.fishbol.org/>.
- Fitch, W.M. & E. Margoliash. 1967. Construction of phylogenetic trees. *Science* 155: 279-284.
<https://doi.org/10.1126/science.155.3760.279>
- Floyd, R., E. Abebe, A. Papert & M. Blaxter. 2002. Molecular barcodes for soil nematode identification. *Mol. Ecol.* 11: 839-850.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2002.01485.x>
- Floyd, R., J. Lima, J. deWaard, L. Humble & R. Hanner. 2010. Common goals: policy implications of DNA barcoding as a protocol for identification of arthropod pests. *Biol. Invasions.*, 12: 2947-2954.
<https://doi.org/10.1007/s10530-010-9709-8>

- Gai, Y., D. Song, H. Sun, Q. Yang & K. Zhou. 2008. The complete mitochondrial genome of *Symphylella* sp. (Myriapoda: Symphyla): Extensive gene order rearrangement and evidence in favor of Progoneata. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 49(2): 574-585.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.08.010>
- Getta, R., L.G. Lohmann, S. Magallón, D.P. Faith & 12 authors. 2014. Biodiversity only makes sense in the light of evolution. *J. Biosci.*, 39: 333-337.
<https://doi.org/10.1007/s12038-014-9427-y>
- Global Biodiversity Information Facility (GBIF). 2015. <http://www.gbif.org/>.
- Grande, C., J. Templado, J.L. Cervera & R. Zardoya. 2004. Phylogenetic relationships among Opisthobranchia (Mollusca: Gastropoda) based on mitochondrial *cox 1*, *trnV*, and *rrnL* genes. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 33: 378-388.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.06.008>
- Hanner, R., S. Becker, N.V. Ivanova & D. Steinke. 2011. FISH-BOL and seafood Identification: Geographically dispersed case studies reveal systemic market substitution across Canada. *Mitochondr. DNA*, 22(S1): 106-122.
<https://doi.org/10.3109/19401736.2011.588217>
- Harris, H. 1966. Enzyme polymorphism in man. *P. Roy. Soc. Lond. B*. 164: 298-310.
<https://doi.org/10.1098/rspb.1966.0032>
- Hebert, P.D.N., A. Cywinska, S.L. Ball & J.R. DeWaard. 2003a. Biological identification through DNA barcodes. *P. Roy. Soc. B*. 270: 313-321.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hebert, P.D.N., S. Ratnasingham & J.R. DeWaard. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome C oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *P. Roy. Soc. B*. 270 (Suppl.): S96-99. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0025>
- Hebert, P.D.N., E.H. Penton, J. Burns, D.H. Janzen & W. Hallwachs. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *P. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 101: 14812-14817.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0406166101>
- Hillis, D.M., C. Moritz & B.K. Mable. 1996. *Molecular Systematics*. Second Edition, Sinauer Associates, 655 p.
<https://doi.org/10.2307/1447682>
- International Barcode of Life Project (iBOL). 2015. <http://www.ibol.org/>.
- Knudsen, B., A.B. Kohn, B. Nahir, C.S. McFadden & L.L. Moroz. 2006. Complete DNA sequence of the mitochondrial genome of the sea slug: conservation of the gene order in Euthyneura. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 38: 459-469.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.08.017>
- Kochzius, M., C. Seidel, A. Antoniou, S.K. Botla, D. Campo, A. Cariani, E. García-Vazquez, J. Hauschild, C. Hervet, S. Hjörleifsdóttir, G. Hreggvidsson, K. Kappel, M. Landi, A. Magoulas, V. Marteinsson, M. Nölte, S. Planes, F. Tinti, C. Turan, M.N. Venugopal, H. Weber & D. Blohm. 2010. Identifying fishes through DNA barcodes and microarrays. *PLoS ONE*, 5(9): e12620.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012620>
- Kurabayashi, A. & R. Ueshima. 2000. Complete sequence of the mitochondrial DNA of the primitive opisthobranch gastropod *Pupa strigosa*: systematic implication of the genome organization. *Mol. Biol. Evol.*, 17: 266-277.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026306>
- Lewontin, R.C. & J.L. Hubby. 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 54: 595-609.
<https://doi.org/10.1093/genetics/54.2.595>
- Liu, Y. & Z. Cui. 2010a. The complete mitochondrial genome of the mantid shrimp *Oratosquilla oratoria* (Crustacea: Malacostraca: Stomatopoda): Novel non-coding regions features and phylogenetic implications of the Stomatopoda. *Comp. Biochem. Phys. D*, 5: 190-198.
<https://doi.org/10.1016/j.cbd.2010.04.001>
- Liu, Y. & Z. Cui. 2010b. Complete mitochondrial genome of the Asian paddle crab *Charybdis japonica* (Crustacea: Decapoda: Portunidae): gene rearrangement of the marine brachyurans and phylogenetic considerations of the decapods. *Mol. Biol. Rep.*, 37: 2559-2569.
<https://doi.org/10.1007/s11033-009-9773-2>
- Lowenstein, J.H., G. Amato & S.-O. Kolokotronis. 2009. The real maccoyii: Identifying tuna sushi with DNA barcodes – Contrasting characteristic attributes and genetic distances. *PLoS ONE*, 4(11): e7866.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007866>
- Lowenstein, J.H., J. Burger, C.W. Jeitner, G. Amato, S.-O. Kolokotronis & M. Gochfeld. 2010. DNA barcodes reveal species-specific mercury levels in tuna sushi that pose a health risk to consumers. *Biol. Lett.*, 6: 692-695.
<https://doi.org/10.1098/rsbl.2010.0156>
- Marine Barcode of Life (MarBOL). 2015. <http://www.marinebarcoding.org/>.
- Márquez, C., M. Elías-Gutiérrez & F. Vergara-Silva. 2010. Base de datos de los códigos de barra de la vida. 167-169, en: Memorias del Congreso Nacional de Genética 2010. Sociedad Mexicana de Genética y FES-Iztacala, UNAM.
- Márquez, C. 2011. Códigos de barras de DNA y marcadores moleculares. 142-148, en: Memorias del Congreso Nacional de Genética 2011. Sociedad Mexicana de Genética y Universidad de las Américas (ISBN 978-607-02-3097-4).
- Miller, A.D. & C.M. Austin. 2006. The complete mitochondrial genome of the mantid shrimp *Harpisquilla harpax*, and a phylogenetic in-

- vestigation of the Decapod using mitochondrial sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 38 (3): 565-574.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.10.001>
- Mora, C., D.P. Tittensor, S. Adl, A.G.B. Simpson & B. Worm. 2011. How many species are there on earth and in the ocean? *Plos Biol.* 9(8): e1001127.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001127>
- National Center for Biotechnology Information (GenBank, NCBI). 2015. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- Pett, W., J.F. Ryan, K. Pang, J.C. Mullikin, M.Q. Martindale, A.D. Baxevanis & D.V. Lavrov. 2011. Extreme mitochondrial evolution in the ctenophore *Mnemiopsis leidyi*: Insights from mtDNA and the nuclear genome. *Mitochondr. DNA*, 22:130-142.
<https://doi.org/10.3109/19401736.2011.624611>
- Polar Barcode of Life (PolarBOL). 2015. <http://www.polarbarcoding.org/>.
- Prosser S., A. Martínez-Arce & M. Elías-Gutiérrez. 2013. A new set of primer for COI amplification from freshwater microcrustaceans. *Mol. Ecol. Resour.* 13: 1151-1155.
<https://doi.org/10.1111/1755-0998.12132>
- Radulovici, A.E., P. Archambault & F. Dufresne. 2010. DNA Barcodes for Marine Biodiversity: Moving Fast Forward?. *Diversity* 2: 450-472.
<https://doi.org/10.3390/d2040450>
- Reaka-Kudla, M.L. 1997. The global biodiversity of coral reefs: A comparison with rain forests. 83-108, en: Reaka-Kudla, M.L., D.E. Wilson, & E.O. Wilson. (Eds.) *Biodiversity II. Understanding and Protecting Our Biological Resources*. Joseph Henry Press, Washington, D.C.
- Richards, V.P., M.J. Stanhope & M.S. Shivji. 2012. Island endemism, morphological stasis, and possible cryptic speciation in two coral reef, commensal Leucothoid amphipod species throughout Florida and the Caribbean. *Biodivers. Conserv.*, 21:343-361.
<https://doi.org/10.1007/s10531-011-0186-x>
- Saitoh K., K. Hayashizaki, Y. Yokoyama, T. Asahida, H. Toyohara & Y. Yamashita. 2000. Complete nucleotide sequence of itochon flounder (*Paralichthys olivaceus*) mitochondrial genome: Structural properties and cue for resolving teleostean relationships. *J. Hered.*, 91: 271-278. <https://doi.org/10.1093/jhered/91.4.271>
- Scouras, A. & M.J. Smith. 2006. The complete mitochondrial genomes of the sea lily *Gymnocrinus richeri* and the feather star *Phanogenia gracilis*: signature nucleotide bias and unique *nad4L* gene rearrangement within crinoids. *Mol. Phylogenet. Evol.* 39: 323-334.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.11.004>
- Shen, X., J. Ren, Z. Cui, Z. Sha, B. Wang, J. Xiang & B. Liu. 2007. The complete mitochondrial genomes of two common shrimps (*Litopenaeus vannamei* and *Fenneropenaeus chinensis*) and their phylogenomic considerations. *Gene*, 403: 98-109.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2007.06.021>
- Shen, X., M. Sun, Z. Wu, M. Tian, H. Cheng, F. Zhao & X. Meng. 2009a. The complete mitochondrial genome of the ridge tail white prawn *Exopalaemon carinicauda* Holthuis, 1950 (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) revealed a novel rearrangement of tRNA genes. *Gene*, 437 (1-2): 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2009.02.014>
- Shen, X., M. Tian, Z. Liu, H. Cheng, J. Tan, X. Meng & J. Ren. 2009b. Complete mitochondrial genome of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Echinodermata: Holothuroidea): The first representative from the subclass Aspidochirotea with the echinoderm ground pattern. *Gene*, 439: 79-86.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2009.03.008>
- Shen, X., H. Wang, J. Ren, M. Tian & M. Wang. 2010. The mitochondrial genome of *Euphausia superba* (Prydz Bay)(Crustacea: Malacostraca: Euphausiacea) reveals a novel gene arrangement and potential molecular markers. *Mol. Biol. Rep.*, 37: 771-784.
<https://doi.org/10.1007/s11033-009-9602-7>
- Smith, P.J., D. Steinke, A. Dettai, P. McMillan, D. Welsford, A. Stewart & R. D. Ward. 2012. DNA barcodes and species identifications in Ross Sea and Southern Ocean Fishes. *Polar. Biol.*, 35:1297-1310.
<https://doi.org/10.1007/s00300-012-1173-8>
- Sponge Barcoding Project (spongebarcoding.org). 2015. <http://www.palaeontologie.geo.uni-muenchen.de/SBP/>.
- Swinstrom K., R. Caldwell, M.H. Fourcade & J.L. Boore. 2005. The first complete mitochondrial genome sequences for stomatopod crustaceans: implications for phylogeny. Secuencias enviadas directamente a NCBI. Manuscrito No publicado. University of California, Berkley.
<https://doi.org/10.2172/960399>
- Teletchea, F. 2010. After 7 years and 1000 citations: Comparative assessment of the DNA barcoding and the DNA taxonomy proposals for taxonomists and non-taxonomists. *Mitochondr. DNA*, 21: 206-226.
<https://doi.org/10.3109/19401736.2010.532212>
- The Canadian Centre for DNA Barcoding (CCDB). 2015. <http://www.ccdb.ca/>.
- Uthicke, S., M. Byrne & C. Conand. 2010. Genetic barcoding of commercial Beche-de-mer species (Echinodermata: Holothuroidea). *Mol. Ecol.* 10: 634-646.
<https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02826.x>

- Valdez-Moreno, M., L. Vásquez-Yeomans, M. Elías-Gutiérrez, N.V. Ivanova & P.D. N. Hebert. 2010. Using DNA barcodes to connect adults and early life stages of marine fishes from the Yucatán Peninsula, México: potential in fisheries management. *Mar. Freshwater Res.*, 61(6): 655–671. <https://doi.org/10.1071/MF09222>
- Valdez-Moreno, M., C. Quintal-Lizama, R. Gómez-Lozano & M.C., García-Rivas. 2012. Monitoring an alien invasion: DNA barcoding and the identification of lionfish and their prey on coral reefs of the Mexican Caribbean. *PLoS ONE* 7(6): e36636. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036636>
- Vargas, S., A. Schuster, K. Sacher, G. Büttner, S. Schätzle, B. Läubli, K. Hall, J.N.A. Hooper, D. Erpenbeck & G. Wörheide. 2012. Barcoding sponges: An overview based on comprehensive sampling. *PLoS ONE*, 7(7):e39345. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039345>
- Williams, S.T., P.G. Foster & D.T.J. Littlewood. 2014. The complete mitochondrial genome of a turbinid vetigastropod from MiSeq Illumina sequencing of genomic DNA and steps towards a resolved gastropod phylogeny. *Gene*, 533: 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.10.005>
- Wilson, E.O. 1992. *The Diversity of Life*. W.W. Norton, N.Y., 424 p.
- Wilson, K., V. Cahill, E. Ballment & J. Benzie. 2000. The complete sequence of the mitochondrial genome of the crustacean *Penaeus monodon*: are malacostracan crustaceans more closely related to insects than to branchiopods? *Mol. Biol. Evol.*, 17 (6): 863-874. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026366>

Copyright (c) 2015 Márquez Becerra, Carlos.



Este texto está protegido por una licencia [Creative Commons 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Usted es libre para Compartir —copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato— y Adaptar el documento —remezclar, transformar y crear a partir del material— para cualquier propósito, incluso para fines comerciales, siempre que cumpla la condición de:

Atribución: Usted debe dar crédito a la obra original de manera adecuada, proporcionar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que tiene el apoyo del licenciante o lo recibe por el uso que hace de la obra.

[Resumen de la licencia](#) - [Texto completo de la licencia](#)