



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Académica Profesional de Ciencias Biológicas

**Aplicación de la metodología de código de barras de  
ADN en especies de importancia medicinal y comercial  
de los géneros *Piper* y *Cinchona*, mediante el estudio de  
la variabilidad de tres loci candidatos MATK, RBCL e  
ITS2**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Biólogo con mención en  
Biología Celular y Genética

**AUTOR**

Julio César CACHAY CÁRDENAS

**ASESORES**

Mg. Fernando Octavio RETUERTO PRIETO

PhD. Gisella ORJEDA FERNÁNDEZ

Lima, Perú

2013

## RESUMEN

En el Perú, el problema de la identificación taxonómica de plantas con importancia medicinal y comercial ha dificultado el aprovechamiento racional y sustentable de recursos importantes. Los géneros *Piper* (Piperaceae) y *Cinchona* (Rubiaceae) producen diversos tipos de metabolitos secundarios, siendo los de mayor importancia los alcaloides, que pueden ser usados principalmente como antiparasitarios y antimicrobianos. Los avances en la aplicación de códigos de barra de ADN están fortaleciendo los esfuerzos para preservar la biodiversidad de la tierra y también proporcionan un método rápido y confiable para la identificación de especies. En el presente trabajo buscamos aplicar la metodología del Código de Barras utilizando dos regiones del ADN cloroplastídico y una región nuclear para identificar varias especies de los géneros *Piper* y *Cinchona* distribuidas a lo largo del territorio peruano. Se trabajó con material fresco y herborizado, que fue colectado y procesado por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se analizaron 209 muestras de herbario y 118 muestras frescas colectadas en 7 departamentos del Perú. Al usar de manera individual los marcadores *rbcL* y *matK*, la distancia genética interespecifica usando el modelo de evolución de Kimura de 2 parámetros (K2p) no fue significativa para ninguno de los dos géneros (distancia de K2p  $\leq 0,01$ ), por lo que se procedió a combinar las dos regiones, mejorando ligeramente la variabilidad entre especies para ambos géneros (distancia de K2p  $\leq 0,015$ ). La región del genoma nuclear ITS2 fue incluida en el análisis dando como resultado un mayor poder discriminativo entre las especies del género *Piper* teniendo una distancia genética  $\geq 0,05$ . En contraste, las especies del género *Cinchona* siguieron presentando poca variabilidad interespecifica. Nuestros resultados indicarían que el empleo de los marcadores *Barcode* universales *rbcL* y *matK*, serían insuficientes para discriminar entre especies de los géneros *Piper* y *Cinchona*, siendo necesario el uso adicional de una o más regiones para tener un mejor valor discriminativo.

Palabras Clave: Plantas, *Cinchona*, *Piper*, Análisis de Datos, Protocolos de Laboratorio

## ABSTRACT

In Perú, the problem of the taxonomic identification of plants with medicinal and commercial importance has hampered the rational and sustainable use of important resources. The genus *Piper* (Piperaceae) and *Cinchona* (Rubiaceae) produce different types of secondary metabolites, the most important being alkaloids, which can be used primarily as anti-parasitic and antimicrobial agents. Advances in the application of DNA barcoding are strengthening efforts to preserve the biodiversity of the land and also provide a fast and reliable method for species identification. In this work we apply the barcode methodology using two chloroplast DNA regions and one nuclear region to identify various species of the genus *Piper* and *Cinchona* distributed throughout the Peruvian territory. We worked with fresh and herbarium material collected and processed by the Museum of Natural History of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos. We analyzed 209 herbarium samples and 118 fresh samples collected in 7 regions of Perú. When using the *rbcl* and *matK* markers individually, the interspecific genetic distance using the evolution model Kimura 2 parameter (K2P) was not significant for either genera (K2P distance  $\leq 0,01$ ), so we proceeded to combine the two regions, improving slightly the variability among species for both genera (K2P distance  $\leq 0,015$ ). The ITS2 region of the nuclear genome was included in the analysis resulting in an increased power of discrimination between species of the genus *Piper* having a genetic distance  $\geq 0,05$ . In contrast, species of the genus *Cinchona* continued to show little interspecific variability. Our results indicate that the use of *rbcl* and *matK* as Universal Barcode markers would be insufficient to discriminate between species of the genus *Piper* and *Cinchona*, requiring the additional use of one or more regions. Our work confirms the difficulty of finding a universal region of DNA barcode in plants.

Keywords: Plants, *Cinchona*, *Piper*, Data Analysis, Laboratory Protocols