

Eficiencia en la obtención de ADN de muestras de sangre y heces de aves silvestres

Tatiana Sofía Jiménez-Herrera¹ / Daisy Alejandra Gómez-Ruiz² / Ingrid Muñoz-Marín³ / Albeiro López-Herrera⁴ / Cristina Úsuga-Monroy⁵

1 Estudiante de Medicina Veterinaria, Corporación Universitaria Remington, miembro del Grupo de Investigación Veterinaria Remington (GINVER). Facultad de Medicina Veterinaria. Corporación Universitaria Remington (Medellín, Colombia).

✉ tatiana.jimenez.3823@miremington.edu.co

<https://orcid.org/0009-0001-8573-0330>

2 Bióloga, M. Sc. (Universidad de Antioquia), miembro del Grupo de Investigación Veterinaria Remington (GINVER). Facultad de Medicina Veterinaria. Corporación Universitaria Remington (Medellín, Colombia).

✉ daisy.gomez@uniremington.edu.co

<https://orcid.org/0000-0002-5046-2989>

3 Médica veterinaria, M. Sc (Universidad CES), miembro del Grupo de Investigación Veterinaria Remington (GINVER). Facultad de Medicina Veterinaria. Corporación Universitaria Remington (Medellín, Colombia).

✉ ingrid.munoz@uniremington.edu.co

<https://orcid.org/0009-0002-1156-2108>

4 Médico veterinario, zootecnista, M. Sc., Dr., miembro del Grupo Biodiversidad y Genética Molecular (BIOGEM). Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia (Medellín, Colombia).

✉ alherera@unal.edu.co

<https://orcid.org/0000-0003-1444-3470>

5 Zootecnista, M. Sc., Dr., Universidad Nacional de Colombia, miembro del Grupo de Investigación Veterinaria Remington (GINVER). Facultad de Medicina Veterinaria. Corporación Universitaria Remington (Medellín, Colombia).

✉ cristina.usuga@uniremington.edu.co

<https://orcid.org/0000-0001-6101-2994>

Resumen

Ante las limitaciones de la caracterización morfológica en especímenes incompletos, producto del tráfico ilegal de fauna silvestre, el análisis molecular surge como una herramienta de identificación indispensable. Este estudio evaluó la eficiencia de extracción del ADN en 50 muestras de sangre y 44 de heces de aves silvestres, pertenecientes al Parque de la Conservación de Medellín. La pureza y la concentración del material genético se determinaron por espectrofotometría y agarosa, además, su funcionalidad se confirmó mediante la amplificación del marcador citocromo c oxidasa I (*COXI*), por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las diferencias métricas entre ambas matrices biológicas se analizaron estadísticamente en el *software* R (v. 4.2.2; $p < 0,05$). En términos cuantitativos, las muestras de sangre presentaron un rendimiento significativamente mayor (mediana de 34,5 ng/μL) frente a las heces (mediana de 6,05 ng/μL; $p = 0,0013$). Asimismo, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la pureza del ADN ($\chi^2 = 42,162$; $p < 0,001$), cuando el 42,9 % de las muestras de sangre alcanzaron una relación 260/280 óptima (1,8-2), en comparación con el 12,5 % de las heces ($p = 0,0068$). A pesar de que la sangre evidenció parámetros de concentración y calidad superiores, ambas muestras permitieron la correcta amplificación del fragmento *COXI* mediante PCR. Esto confirma que, si bien la sangre es una matriz más eficiente, las muestras de heces son adecuadas y funcionales para desarrollar estudios genéticos en aves. En particular, el uso de heces representa una alternativa valiosa en trabajos de campo, al obtener material genético sin necesidad de recurrir a la captura y manipulación directa de los individuos.

Palabras clave: biodiversidad, *COXI*, código de barras, fauna silvestre.

Efficiency of DNA extraction from blood and fecal samples of wild birds

Abstract

Given the limitations of morphological characterization in incomplete specimens resulting from the illegal wildlife trade, molecular analysis emerges as an indispensable identification tool. This study evaluated the efficiency of DNA extraction from 50 blood and 44 fecal samples from wild birds housed at the Parque de la Conservación in Medellín. The purity and concentration of the extracted genetic material were determined via spectrophotometry and agarose gel electrophoresis, and its functionality was confirmed through PCR amplification of the *COXI* marker. Metric differences

Cómo citar este artículo: Jiménez-Herrera, TS, Gómez-Ruiz, DA, Muñoz-Marín I, López-Herrera A y Úsuga-Monroy C. Eficiencia en la obtención de ADN de muestras de sangre y heces de aves silvestres. *Rev Med Vet.* 2026;(52):e5481. <https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss52.5481>



between both biological matrices were statistically analyzed using R *software* (v. 4.2.2; $p < 0,05$). Quantitatively, blood samples exhibited a significantly higher DNA yield (median of 34,5 ng/ μ L) compared to fecal samples (median of 6,05 ng/ μ L; $p = 0,0013$). Furthermore, statistically significant differences were observed in DNA purity ($\chi^2 = 42,162$; $p < 0,001$), with 42,9 % of blood samples achieving an optimal 260/280 ratio (1,8-2), compared to only 12,5 % of fecal samples ($p = 0,0068$). Despite blood demonstrating superior concentration and quality parameters, both sample types allowed for the successful PCR amplification of the *COXI* fragment. This confirms that, although blood is a more efficient biological matrix, fecal samples are fully adequate and viable for conducting avian genetic studies. In particular, the use of feces represents a highly valuable non-invasive alternative for fieldwork, as it allows for the collection of genetic material without the need for animal capture and direct handling.

Keywords: biodiversity, *COXI*, barcode, wildlife.

INTRODUCCIÓN

Colombia es un país que cuenta con una gran variedad de ecosistemas y especies silvestres, lo cual le ha permitido posicionarse como el cuarto país con mayor biodiversidad del mundo y el primero en diversidad de aves, orquídeas y mariposas [1]. Sin embargo, en la actualidad, el país enfrenta el comercio ilegal de especies silvestres, actividad que contribuye a la reducción poblacional y a la pérdida potencial de diversidad genética [2].

Con el fin de contrarrestar la pérdida de biodiversidad y garantizar la protección de la fauna y la flora, el Estado colombiano implementó estrategias normativas que incluyen el decomiso de especímenes, productos y subproductos de origen silvestre [3, 4]. Ahora bien, respecto a la adecuada ejecución de estas medidas, resulta fundamental que los agentes de control cuenten con las herramientas necesarias para identificar correctamente las especies, además de los productos y subproductos derivados de ellas. La identificación morfológica es una de las aproximaciones más usadas; no obstante, su aplicación es compleja debido a factores como la ausencia del espécimen completo, la plasticidad fenotípica o las variaciones ontogénicas, entre otros. En este contexto, las técnicas moleculares constituyen una estrategia clave para identificar especímenes completos o subproductos, además de contribuir a la consolidación de bases de datos del ácido desoxirribonucleico (ADN), que permi-

tan una clasificación congruente con los parámetros taxonómicos morfológicos [5]. La identificación molecular de especies se lleva a cabo mediante el uso de marcadores genéticos específicos, entre los que destacan los genes mitocondriales. El ADN mitocondrial (ADNmt) corresponde a una molécula circular de entre 16 000 a 17 000 nucleótidos, que alberga el material genético conservado en las mitocondrias de las células de cada organismo [6]. El ADNmt de vertebrados se caracteriza por la ausencia de intrones y por no contener regiones no codificantes, en comparación con las presentes en el ADN nuclear [7]. Estas características propician que el gen COI sea utilizado como marcador molecular durante la identificación de especies y estudios del código de barras de ADN, al facilitar la asignación taxonómica de especímenes completos o fragmentados y contribuir a la construcción de bases de datos de referencia, que apoyan estudios de biodiversidad y sistemática [8].

Para llevar a cabo aproximaciones taxonómicas moleculares, es necesario obtener material genético de calidad de la especie de interés, el cual se extrae de diversas muestras biológicas, como hisopados, tejidos o saliva. En muchos casos, estas muestras requieren procedimientos invasivos que implican la captura y manipulación de los individuos. En contraste, existen otras fuentes poco invasivas, como heces, plumas o pelos, que pueden re-

colectarse en campo, para obtener ADN sin necesidad de capturar a los animales [9]. Con este enfoque, se reduce el estrés, el riesgo de lesiones en individuos, los requerimientos logísticos y éticos asociados a la captura; además, favorece la obtención de información genética de individuos difíciles de atrapar o pertenecientes a poblaciones vulnerables. Este hecho contribuye al desarrollo de estudios moleculares que apoyen estrategias de manejo y conservación de la biodiversidad [10].

El desarrollo de aplicaciones moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o la secuenciación para la caracterización molecular de especies, demanda que el material genético obtenido sea de alta calidad, en función de obtener datos confiables y reproducibles en la implementación de estas técnicas [11]. Sin embargo, la calidad del ADN varía de manera significativa según el tipo de muestra biológica, el método de conservación empleado, las condiciones de transporte y almacenamiento [12]. Dicha calidad se evalúa de manera directa o indirecta mediante técnicas de espectrofotometría o electroforesis en gel de agarosa. La espectrofotometría determina la concentración del ADN (ng/ μ L) a partir de la absorbancia de luz ultravioleta a una longitud de onda de 260 nm [13]. En cuanto a la calidad, se estima con la relación de absorbancia 260/280, cuyos valores entre 1,8 y 2 corresponden a ADN de pureza óptima; valores inferiores a 1,6 sugieren posible presencia de proteínas, fenoles u otros contaminantes, mientras que valores superiores a 2,1 indican contaminación por ácido ribonucleico (ARN) en la muestra [14]. La calidad de la extracción depende del tipo de muestra, su procesamiento durante la extracción, entre otros factores.

Por otra parte, la electroforesis en gel de agarosa es una técnica que separa fragmentos del ADN en función de su tamaño (pares de bases). La técnica consiste en someter el ADN a un campo eléctrico, para aprovechar su carga neta negativa que lo impulsa hacia el ánodo; en adición, la fricción de las moléculas en la matriz de agarosa provoca que estas se separen según su tamaño y topología, de modo que las de mayor tamaño migran más lentamente y recorren menor distancia en el gel [15]. Al finalizar el procedimiento, los fragmentos de ADN se vi-

sualizan y, con un *software* especializado, se hace una estimación aproximada de la concentración, al compararla con la concentración conocida del marcador de peso molecular, además de una evaluación visual del grado de integridad del material genético y una detección de posibles contaminantes.

La obtención de ADN de alta calidad, a partir de muestras no invasivas, como heces o plumas, constituye una herramienta relevante en la identificación molecular de especies y de sus derivados. Este enfoque origina información genética confiable sin necesidad de recurrir a la captura o manipulación de los individuos. Asimismo, facilita el análisis de productos derivados de la fauna traficada, la cual frecuentemente no dispone del organismo completo para su identificación. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación consistió en evaluar la calidad y cantidad del ADN extraído de muestras de sangre y heces, con el fin de establecer el tipo de muestra adecuada para obtener material genético en aves recuperadas del tráfico ilegal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Consideraciones éticas

El Comité de Bioética para la Investigación con Animales (CIBA), de la Corporación Universitaria Remington, Medellín, Colombia, según consta en el acta 08-2022, evaluó y aprobó este estudio.

Muestras

El muestreo se realizó durante mayo del 2023 a junio del 2024, en el Parque de la Conservación de Medellín, Colombia, ubicado al suroeste de la ciudad. Se tomaron muestras de los especímenes de aves silvestres que forman parte de la colección permanente del parque y que fueron ingresadas allí como parte del proceso de recuperación. La toma de muestras se realizó durante procedimientos rutinarios de manejo de los individuos, por lo que no siempre fue posible tomar ambos tipos de muestra (heces y sangre) del mismo individuo. Todos los es-

pecímenes contaron con su identificación taxonómica, de acuerdo con caracteres morfológicos externos.

Toma de muestras de sangre y heces

La toma de muestras de sangre periférica se realizó en tubos de Microtainer®, con anticoagulante (K_2 EDTA 1 mg) de la vena ulnar. Las muestras de heces se tomaron con hisopado rectal, el cual se depositó en un tubo estéril de 1,5 ml, con 300 μ L de *buffer* DMSO-NaCl. Todas las muestras se transportaron bajo condiciones de refrigeración (4 °C) al Laboratorio de La Vida, de la Corporación Universitaria Remington, y se almacenaron a -20 °C hasta su análisis.

Extracción del ADN total

Para extraer el ADN total, se emplearon los kits comerciales HigherPurity™ Blood & Cell Culture DNA Extraction (Canvax Biotech, Spain, Cat. AN0045-XL) y HigherPurity™ Stool DNA Isolation Kit (Canvax Biotech, Spain, Cat. AN0131-XL). La extracción se realizó según el protocolo del fabricante, con las siguientes modificaciones:

- Para extraer el ADN de sangre, se usaron 25 μ L de sangre y se ajustó el volumen con 75 μ L de solución salina tamponada (*phosphate buffered saline* o PBS).
- Para extraer el ADN de heces, se ajustó el volumen de proteinasa K en 25 μ L.
- Por último, la elusión del ADN se realizó en un volumen final de 30 μ L de Elution Buffer.
- Las muestras fueron conservadas a -20°C hasta su análisis.

Evaluación de calidad y cantidad de ADN obtenido

La calidad y cantidad de ADN obtenido se evaluó a través de electroforesis en gel de agarosa y espectrofotometría. En primer lugar, las muestras de ADN se analizaron

en un gel de agarosa al 0,5 %; los geles fueron teñidos con GreenSafe DNA Gel Stain (Canvax Biotech, Spain, Cat. E0206) y corridos a 90 voltios durante 30 minutos. Los geles se visualizaron en un fotodocumentador de geles (Gel Doc™ XR + Gel Documentation System, Bio-Rad), con el que se realizó la captura, documentación y análisis de cada una de las imágenes de los geles de agarosa. Se determinó la intensidad e integridad de las bandas, el *smear* generado a lo largo del carril y la cantidad de ADN obtenido a través del análisis del tamaño de banda respecto al marcador de peso molecular BrightMAX™ 500-10 000 bp (Canvax Biotech, Spain, Cat. L0017). El análisis por espectrofotometría se realizó con 1 μ L de ADN por muestra en un espectrofotómetro NanoDrop™ 2000 (Thermo Fisher Scientific). De cada muestra se obtuvieron los valores 260/280, 260/230 y su concentración (ng/ μ L).

PCR para el citocromo oxidasa I

Se emplearon los cebadores BirdF1 (5'-TTCTCCAACCA-CAAAGACATTGGCAC-3') y BirdR1 (5'-ACGTGGGAGATAATTCCAAATCCTG-3') [16], con los que se obtuvo un fragmento cercano a los 725 pb. La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 20 μ L, que contenía 4 μ L o 50 ng/ μ L de ADN, 1 μ L de cada cebador (10 mM), 10 μ L de 2X Taq DNA Polymerase Master Mix (Horse-Power™ Taq DNA Polymerase Master Mix, Canvax Biotech) y 4 μ L de H₂O grado molecular.

Las condiciones de reacción fueron desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 minutos, seguida de 40 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos; luego, alineamiento a 51 °C durante 30 segundos, extensión a 72 °C durante 48 segundos y una extensión final a 72°C durante 5 minutos. Como control positivo, se usó el ADN de un ave previamente caracterizada por este marcador *Ara macao* R537574 [17], donada al proyecto por BIOGEM, de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín; por último, como control negativo se usó H₂O grado molecular. Los productos de PCR se visualizaron en un gel de agarosa al 2 %, teñido con Green Safe DNA Gel Stain (Canvax Biotech) y el marca-

dor BrightMAX™ 100-1500 bp (Canvax Biotech, Spain, Cat. L0013).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información cuantitativa de las mediciones de concentración y calidad del ADN se analizó en función del tipo de muestra (sangre o heces). Para valorar la distribución de los datos, se aplicaron pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y se identificó que los datos no seguían una distribución normal. En consecuencia, se utilizó estadística no paramétrica para comparar las medianas entre los grupos. Se calcularon la mediana y el rango intercuartílico (RIQ) de la concentración de ADN (ng/μL) y se contrastaron los valores obtenidos entre sangre y heces con la prueba de Wilcoxon de muestras independientes. Posterior a ello, las muestras se categorizaron según rangos definidos de concentración: < 10 ng/μL (baja), 10,1-20 ng/μL (moderada) y > 20 ng/μL (suficiente para aplicaciones posteriores) [18]; así como por la calidad del ADN (260/280 < 1,6; 1,6-1,79; 1,8-2; ≥ 2). Para identificar asociaciones entre el tipo de muestra y

estas categorías, se aplicó la prueba de chi-cuadrado de independencia. En los casos en que se encontraron asociaciones significativas ($p < 0,05$), se realizaron comparaciones *post hoc* de proporciones ajustadas mediante la corrección de Bonferroni.

Todos los análisis estadísticos y visualización de datos se realizaron en el *software* R (v. 4.2.2), con el uso de los paquetes *rstatix* y *ggplot2*. La significancia estadística se estableció en un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Se recolectaron 50 muestras de sangre y 44 muestras de heces provenientes de distintos especímenes, correspondientes a 19 especies distribuidas en 7 órdenes y 9 familias (tabla 1). Se examinaron 49 muestras de sangre y 40 de heces para conocer la calidad y cantidad de ADN a través de espectrofotometría. Una muestra de sangre se excluyó, porque se coaguló y no se pudo procesar. Cuatro muestras de heces se excluyeron por baja cantidad presente en el hisopo.

Tabla 1. Especies de aves, número de individuos y tipo de muestra biológica recolectada

Orden	Familia	Especie	Categoría UICN	Número de individuos	Tipo de muestra
Cathartiformes	Cathartidae	<i>Sarcoramphus papa</i>	LC	4	Sangre y heces
Anseriformes	Anatidae	<i>Neochen jubata</i>	NT	3	Sangre y heces
Psittaciformes	Psittacidae	<i>Pionus chalcopterus</i>	LC	1	Sangre y heces
Psittaciformes	Psittacidae	<i>Amazona autumnalis</i>	LC	1	Sangre
Psittaciformes	Psittacidae	<i>Amazona ochrocephala</i>	LC	1	Sangre
Falconiformes	Falconidae	<i>Caracara cheriwey</i>	LC	2	Sangre y heces
Falconiformes	Falconidae	<i>Milvago chimachima</i>	LC	1	Sangre
Strigiformes	Strigidae	<i>Bubo virginianus</i>	LC	2	Sangre y heces
Strigiformes	Tytonidae	<i>Tyto alba</i>	LC	1	Sangre
Phoenicopteriformes	Phoenicopteridae	<i>Phoenicopus ruber</i>	LC	6	Sangre
Charadriiformes	Burhinidae	<i>Burhinus bistriatus</i>	LC	7	Heces
Psittaciformes	Psittacidae	<i>Amazona amazonica</i>	LC	1	Heces
Anseriformes	Anhimidae	<i>Chauna chavaria</i>	LC	1	Heces
Strigiformes	Strigidae	<i>Pulsatrix perspicillata</i>	LC	1	Sangre y heces
Psittaciformes	Psittacidae	<i>Ara militaris</i>	VU	2	Sangre y heces

Tabla 2. Evaluación de calidad y cantidad de ADN mediante espectrofotometría

Cantidad			Calidad		
Concentración (ng/μL)	Porcentaje de sangre (n= 49)	Porcentaje de heces (n= 40)	Relación 260/280	Porcentaje de sangre (n= 49)	Porcentaje de heces (n= 40)
3-10	12,2	75	< 1,6	26,5	25
10,1-20	12,2	15	1,6-1,79	18,4	17,5
> 20	71,4	10	1,8-2	42,9	12,5
Degradadas	4,1	0	≥ 2	12,2	45

El análisis de independencia mediante chi-cuadrado evidenció una asociación estadísticamente significativa entre el tipo de muestra (sangre vs. heces) y la cantidad de ADN ($\chi^2 = 15,738$; gl = 3; $p = 0,0013$), además de la calidad del ADN ($\chi^2 = 42,162$; gl = 3; $p < 0,00000000371$). El análisis *post hoc*, con corrección de Bonferroni, reveló que, en términos de calidad, la proporción de muestras con relaciones 260/280 entre 1,8-2 fue significativamente mayor en sangre en contraste con heces ($p = 0,0068$), mientras que la categoría ≥ 2 no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,0572$).

Respecto a la cantidad de ADN, se observó una mayor proporción de muestras de heces en el rango de 3-10 ng/μL ($p < 0,05$), mientras que, en la categoría > 20 ng/μL, la proporción fue significativamente mayor en las muestras de sangre comparadas con las de heces. Tanto las muestras de heces como de sangre amplificaron correctamente el fragmento *COXI*, como se aprecia en la figura 2.

Discusión

Los resultados mediante espectrofotometría evidencian diferencias significativas en la calidad y cantidad entre las muestras extraídas de sangre y heces. Las muestras de sangre presentaron concentraciones más elevadas de ADN y una mayor proporción de ellas estuvieron dentro del rango de alta pureza (260/280 entre 1,8-2), en comparación con las heces. Estos hallazgos coinciden con previos reportes [19], en los que se determinaron que las muestras de sangre proporcionan ADN de mayor integridad y pureza, debido a la menor presencia de inhibidores, contaminantes y mayor estabilidad del ADN

nuclear y ADNmt. La sangre de las aves exhibió la presencia de glóbulos rojos nucleados [20], lo que aporta a que la concentración de ADN sea mayor en este tipo de muestra; por el contrario, las heces requieren protocolos de extracción más sofisticados, que remuevan la mayor cantidad de los contaminantes presentes.

Nuestros datos muestran que el 71,4 % de las muestras de sangre superaron los 20 ng/μL, frente al 10 % en heces. Este resultado indica que la sangre sigue siendo el estándar de referencia en estudios moleculares en aves [21, 22]. Sin embargo, las heces representan un recurso valioso al permitir la obtención de material genético de manera no invasiva, aspecto fundamental en especies silvestres o amenazadas. Sería necesario evaluar la eficiencia de la extracción con muestras de heces obtenidas en campo.

La pureza del ADN en heces mostró una proporción del 12,5 % de muestras con valores de 1,8-2, en la relación 260/280; esto sugiere que, pese a su menor rendimiento, la calidad es adecuada en algunos casos. La baja concentración y pureza observadas en las heces pueden atribuirse a la naturaleza degradativa de la flora intestinal, así como a la presencia de compuestos que interfieren con la extracción y amplificación del ADN: polifenoles, sales biliares y restos microbianos [23, 24]. Otros factores, como el tipo de dieta, el tiempo de exposición ambiental y degradación por enzimas endógenas y exógenas, también generan la fragmentación del ADN y, por lo tanto, los cambios en la calidad del ADN obtenido [25, 26].

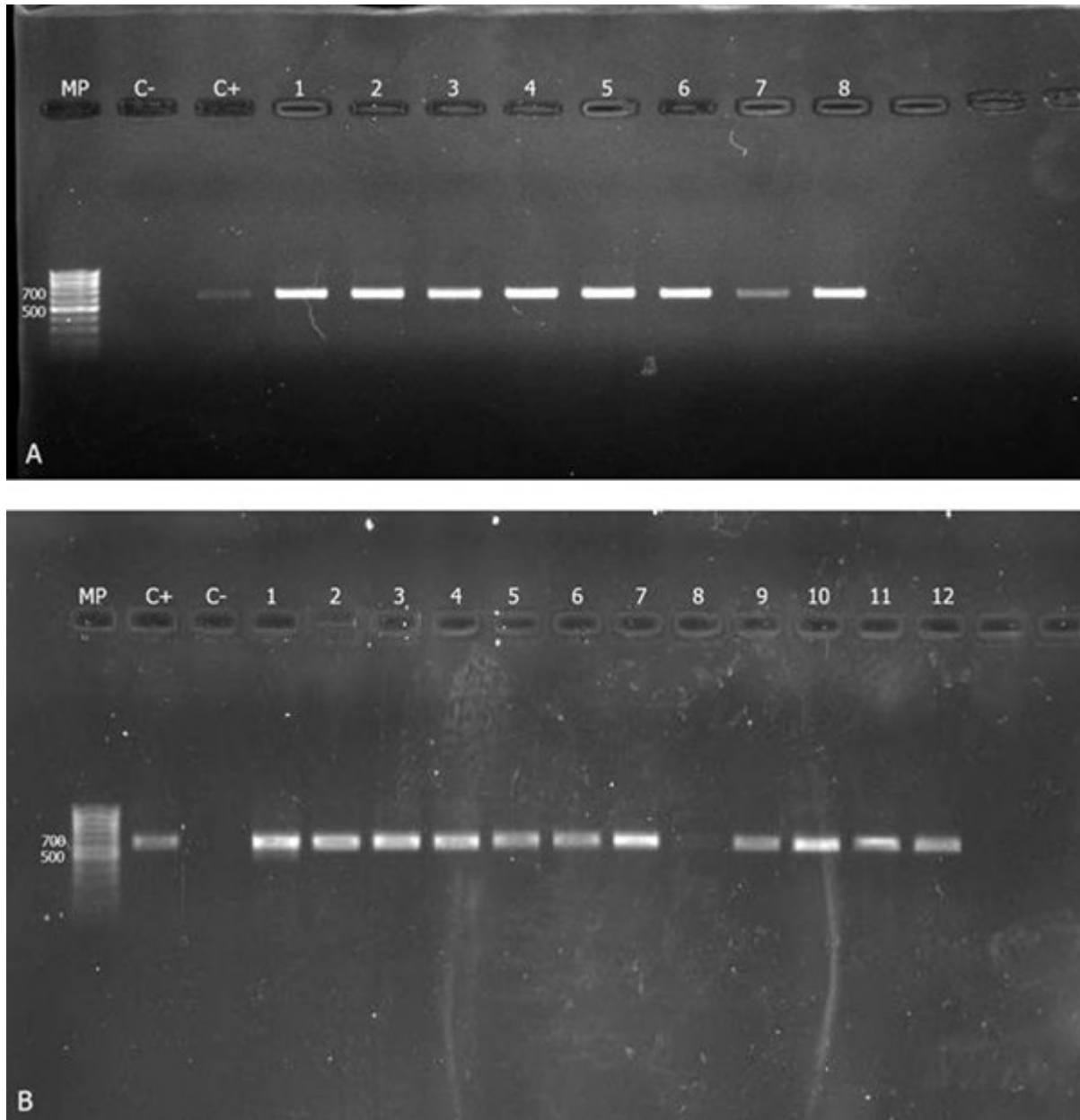


Figura 2. Visualización en gel de agarosa de los amplicones *COXI* (~700pb) en sangre (A) y heces (B)

MP = marcador de peso 100-1,500 bp

C-: control negativo

C+: control positivo (*Ara macao* R537574)

Los números corresponden con las muestras.

La relación $260/280 \geq 2$, observada en una alta proporción de muestras fecales (45 %), se asocia a la presencia de ARN o compuestos fenólicos, lo cual es común en extracciones fecales no optimizadas [27]. Estos valores también pueden estar influenciados por factores adicionales, como errores instrumentales o bajas concentraciones de ADN, que afectan la precisión de la medición espectrofotométrica. Por otra parte, la degradación del ADN en sangre puede deberse a condiciones particulares de conservación o a la presencia de procesos fisiopatológicos, que afectan la integridad celular en el momento de la extracción; fenómeno también reportado en estudios con animales silvestres en cautiverio [28].

Aunque se encontraron diferencias significativas en la calidad de las muestras de sangre respecto a las de heces, ambos tipos permitieron la amplificación exitosa del fragmento *COXI*. Este resultado concuerda con investigaciones que destacan la robustez de los marcadores mitocondriales sobre la identificación molecular de especies, incluso a partir de muestras degradadas o con bajo contenido de ADN [29].

En general, este gen ha sido validado como el estándar en programas de código de barras de ADN, gracias a su alto nivel de conservación intraespecífica y adecuada variabilidad interespecífica [30]. Debido a que el ADNmt tiene mayor número de copias por célula (100 a 10 000, según el tejido) [31], en comparación con el ADN nuclear (dos copias por célula), hay más probabilidades de recuperación de este material en muestras de calidad subóptima: tejidos degradados, heces o restos biológicos ambientales. En este sentido, el uso de heces como fuente de ADN representa una herramienta valiosa en estudios de genética de la conservación. Los resultados destacan que el *tipo de muestra* es un factor crítico en el diseño y la interpretación de estudios genéticos. Aunque las heces constituyen una alternativa no invasiva de monitoreo de especies, su aprovechamiento requiere protocolos de extracción optimizados y condiciones rigurosas de conservación, a fin de minimizar la presencia de inhibidores y la degradación del material genético. La integración de ambos tipos de muestras, heces y sangre, potenciaría la calidad y la robustez de

los análisis, en especial, dentro de contextos de conservación de aves silvestres y en estrategias contra el tráfico ilegal de fauna. Futuras investigaciones deberían enfocarse en perfeccionar los métodos de extracción y en evaluar la influencia de factores ambientales sobre la estabilidad del ADN fecal, que ampliarían el alcance y la aplicabilidad de estas herramientas en biología de la conservación.

Conclusiones

Los resultados evidenciaron que los parámetros de calidad y cantidad de ADN fueron mejores en las muestras de sangre en comparación con las de heces. Sin embargo, ambos tipos de muestras demostraron ser funcionales en la amplificación por PCR, a pesar de las diferencias en calidad y cantidad de ADN, lo que resalta su utilidad en estudios de genética aplicada a la conservación. La evaluación previa de la calidad y cantidad del ADN extraído resulta esencial para garantizar datos confiables y reproducibles, los cuales, a su vez, pueden emplearse como herramientas en la identificación molecular de especies silvestres. Por otra parte, la optimización de los protocolos de extracción y conservación, con ajustes específicos según el tipo de muestra, es un aspecto clave para maximizar la recuperación y pureza del material genético. Este enfoque no solo incrementa la eficiencia de los análisis moleculares, sino que también amplía el potencial de las muestras no invasivas en programas de monitoreo, conservación y manejo de biodiversidad.

Referencias

1. Sistema de Información sobre Biodiversidad (SiB) Colombia [página web]. Biodiversidad de Colombia en el mundo. Bogotá: SiB Colombia. 2026. <https://cifras.biodiversidad.co/>
2. Hinsley A, Willis J, Dent AR, Oyanedel R, Kubo T, Challender DWS. Trading species to extinction: Evidence of extinction linked to the wildlife trade. Cambridge Prisms: Extinction. 2023;(1):e10. <https://doi.org/10.1017/ext.2023.7>

3. Asprilla-Perea J, Serna-Agudelo J, Palacios-Aprilla Y. Diagnóstico sobre el decomiso de fauna silvestre en el departamento del Chocó (Pacífico norte colombiano). *Rev. U. D. C. A. Act. & Div. Cient.* 2013 jun. 30;16(1):175-184. <https://tinyurl.com/2y8psuvo>
4. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial (MinVivienda, Colombia). Resolución 2064 del 2010, por la cual se reglamentan las medidas posteriores a la aprehensión preventiva, restitución o decomiso de especímenes de especies silvestres de fauna y flora terrestre y acuática y se dictan otras disposiciones. Bogotá: MinVivienda; 2010. <https://tinyurl.com/2dzc7q6>
5. Paz A, González M, Crawford A. Códigos de barras de la vida: introducción y perspectiva. *Acta Biol. Colomb.* 2011 sep.;16(3):161-176.
6. Aquadro CF, Greenberg BD. Human mitochondrial ADN variation and evolution: Analysis of nucleotide sequences from seven individuals. *Genetics.* 1983 feb.;103(2):287-312. <https://doi.org/10.1093/genetics/103.2.287>
7. Dong Z, Wang Y, Li C, Li L, Men X. Mitochondrial ADN as a molecular marker in insect ecology: Current status and future prospects. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 2021 jul.;114(4):470-476. <https://doi.org/10.1093/aesa/saab020>
8. Hebert PDN, Stoeckle MY, Zemplak TS, Francis CM. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biol.* 2004 sep. 28;2(10):e312. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020312>
9. González MA, Arenas-Castro H, editores. Recolección de tejidos biológicos para análisis genéticos. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt; 2017. 33 p. <https://tinyurl.com/2afpv7cf>
10. Taberlet P, Waits LP, Luikart G. Noninvasive genetic sampling: Look before you leap. *Trends Ecol. Evol.* 1999 ag.;14(8):323-327. [https://doi.org/10.1016/s0169-5347\(99\)01637-7](https://doi.org/10.1016/s0169-5347(99)01637-7)
11. Alejos-Velázquez LP, Aragón-Martínez MC, Cornejo Romero A. Extracción y purificación de ADN. En Cornejo-Romero A, Serrato-Díaz A, Rendón-Aguilar B, Rocha-Munive MG, editores. *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos.* Ciudad de México: Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. 2014; p. 1-25.
12. Soto-Calderón ID, Salazar-Meneses MF, Maldonado AM, Mendoza AP, Valle-Useche CM, Ussa-Pérez DA, editores. *Guía para la colecta de muestras biológicas de especies silvestres para análisis genéticos.* Antioquia: Universidad de Antioquia. 2023; p. 24.
13. Reinoso EB, Dieser SA, Moliva MV. *Manual de herramientas moleculares: conceptos básicos y técnicas empleadas en el estudio de la genética microbiana.* Río Cuarto: Universidad Nacional de Río Cuarto; 2022.
14. Lucena-Aguilar G, Sánchez-López AM, Barberán-Aceituno C, Carrillo-Ávila JA, López-Guerrero JA, Aguilar-Quesada R. DNA source selection for downstream applications based on DNA quality indicators analysis. *Biopreserv Biobank.* 2016 ag.;14(4):264-270. <https://doi.org/10.1089/bio.2015.0064>
15. Acuña-Balbuena AB, Núñez-Giménez MC, Ortiz N, Santander-Díaz L, Coronel-Cristaldo R, Cardozo L, *et al.* Comparación de dos métodos para la evaluación de la calidad del ADN obtenido mediante la técnica del CTAB para muestras de plantas medicinales de Paraguay. *Rev. Estud. Investig. Saber Acad.* 2023;17(17):e2023018.

16. Hebert PDN, Stoeckle MY, Zemplak TS, Francis CM. Identification of birds through DNA barcodes. PLoS Biol. 2004 sep. 28;2(10):e312. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020312>
17. National Center for Biotechnology Information (NCBI). OR537574.1 [página web]. Bethesda: National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OR537574.1>
18. Dilley K, Pagan F, Chapman B. Methods for ensuring the highest DNA concentration and yield in future and retrospective trace DNA extracts. Sci Justice. 2021 mar.;61(2):193-197. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2020.11.005>
19. Kohn MH, Wayne RK. Facts from feces revisited. Trends Ecol Evol. 1997 jun.;12(6):223-227. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(97\)01050-1](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(97)01050-1)
20. Doussang D, Palma C, Grandón-Ojeda A, Moreno L, Zambrano B, Pavez E, et al. Hematological and serum chemistry reference values of captive Black-chested Buzzard-Eagles (*Geranoaetus melanoleucus*). Ornitol Neotrop. 2023;34(1):24-28. <https://doi.org/10.58843/ornneo.v34i1.1061>
21. Cambrone C, Motreuil S, Reyes FO, Landestroy MA, Cézilly F, Bezault E. Obtaining DNA samples from sensitive and endangered bird species: A comparison of saliva and blood samples. Ardeola. 2022;69(2):263-278. <https://doi.org/10.13157/arla.69.2.2022.sc1>
22. Al-Shuhaib MBS. A minimum requirements method to isolate large quantities of highly purified DNA from one drop of poultry blood. J Genetics. 2018 ag. 24;97(4):e87-e94.
23. Hart ML, Meyer A, Johnson PJ, Ericsson AC. Comparative evaluation of DNA extraction methods from feces of multiple host species for downstream next-generation sequencing. PLoS One. 2015 nov. 24;10(11):e0143334. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143334>
24. Feller JD, Colton L. Comparison of commercially available DNA and RNA extraction kits for wildlife feces collected from the environment. BioTechniques. 2024;76(9):463-472. <https://doi.org/10.1080/07366205.2024.2397284>
25. Rohland N, Hofreiter M. Ancient DNA extraction from bones and teeth. Nat Protoc. 2007;2(7):1756-1762. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.247>
26. Beja-Pereira A, Oliveira R, Alves PC, Schwartz MK, Luikart G. Advancing ecological understandings through technological transformations in noninvasive genetics. Mol Ecol Resour. 2009 sep.;9(5):1279-1301. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02699.x>
27. King C, Debruyne R, Kuch M, Schwarz C, Poinar H. A quantitative approach to detect and overcome PCR inhibition in ancient DNA extracts. Biotechniques. 2009 nov.;47(5):941-949. <https://doi.org/10.2144/000113244>
28. Schulze-Johann K, Bauer H, Wiegand P, Pfeiffer H, Vennemann M. Detecting DNA damage in stored blood samples. Forensic Sci Med Pathol. 2023 mzo.;19(1):50-59. <https://doi.org/10.1007/s12024-022-00549-3>
29. Hajibabaei M, Singer GAC, Hebert PDN, Hickey, DA. DNA barcoding: How it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. Trends Genet. 2007 abr.;23(4):167-172. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2007.02.001>
30. Barboza CM, Cocchi M, de Souza TCP, Fernandes MES, Junior PC, Batista HB de CR. Sequenciamento parcial do gene Citocromo C oxidase (COI) para determinação de espécies de morcegos enviados para diagnóstico de raiva no Instituto Pasteur.

Braz J Develop. 2023 en. 11;9(1):2259-2271. <https://doi.org/10.34117/bjdv9n1-155>

31. Wai T, Ao A, Zhang X, Cyr D, Dufort D, Shoubridge EA. The role of mitochondrial DNA copy number in mammalian fertility. Biol Reprod. 2010 jul.;83(1):52-62. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.080887>

Agradecimiento:

A Julián Marín Villa, Diana Restrepo-Rodas y Geraldine Sánchez-Rodríguez, por su apoyo en la toma de muestras.

Al Parque de la Conservación de Medellín, por permitirnos el espacio para trabajar.

A la Vicerrectoría de Investigaciones de la Corporación Universitaria Remington, Universidad Nacional de Colombia (sede Medellín) y a DISMOL S.A.S, por su financiación para el desarrollo de esta investigación. Proyecto código 4000000407.