

Filogeografía comparada de especies de los géneros *Pseudoplatystoma*, *Colossoma*, *Piaractus*, *Cichla* y *Pygocentrus* en el Alto Madera

Juan Pablo Torrico^{1,3}, Carmen Rosa García², Eric Desmarais³, Jesús Nuñez^{1,4},
Fabrice Duponchelle¹⁴, Jean François Renno^{1,4}

¹ Universidad Mayor San Andrés (UMSA), IBM y B, La Paz, Bolivia.

e-mail: jptb_bioevol@lycos.es, ibmb_jptb@hotmail.com

² Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP),

Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología (LBMB),

Avenida Abelardo Quiñones, Km. 2.5, Iquitos, Perú

e-mail: cdavila@iiap.org.pe, cdavila19@yahoo.com

³ GPIA (UMR 5171), CNRS-IFREMER-UM2, Station Marine de
l'Environnement Littoral, 1 quai de la Daurade, 34200 Sète, France

e-mail: desmarais@univ-montp2.fr

⁴ Institut de Recherche pour le Développement (IRD), UR175, GAMET,

BP 5095, 34196 Montpellier cedex, France

e-mail: renno@univ-montp2.fr, nunez@ird.fr, duponchelle@ird.fr

Palabras clave: Filogeografía, Alto-Madera, Cichlidae, Pimelodidae, Serrasalminae

Resumen

Con el objetivo de obtener una visión preliminar de la filogeografía de seis especies de peces de interés económico, con rasgos de vida contrastados y de amplia distribución en Amazonía: *Colossoma macropomum*, *Piaractus brachypomus*, *Pygocentrus nattereri*, *Pseudoplatystoma fasciatum*, *Pseudoplatystoma tigrinum*, *Cichla monoculus*, analizamos las secuencias nucleotídicas de una porción del genoma mitocondrial (Región de Control o D Loop).

La ausencia de concordancia filogeográfica entre dichas especies permite proponer diferentes escenarios para interpretar su historia evolutiva en la región.

Introducción

La filogeografía es la estrategia moderna de la biogeografía histórica que asocia los métodos y conceptos de la filogenia, la genética de poblaciones y la biogeografía

(Awise, 2004). Esta disciplina ha revolucionado la ecología histórica y la biología de poblaciones y permite comprender mejor los mecanismos de la evolución de las especies, pero también puede ayudar al establecimiento y ejecución de nuevas estrategias de gestión de la biodiversidad (Bernatchez & Wilson, 1998; Moritz & Faith, 1998)

El Alto-Madera constituye una de las zonas geográficas de mayor complejidad de la cuenca Amazónica, en particular en lo que se refiere a las características físico-químicas del agua (Roche *et al.*, 1988; Guyot *et al.*, 1998; Goulding & Barthem, 2004). A pesar de ello, hasta la fecha muy pocos estudios se han interesado de manera directa en esta región tan particular. Desde el establecimiento general de su configuración actual, hace unos cinco millones de años atrás, esta región ha sufrido numerosas modificaciones en su geomorfología y ecología (Lundberg *et al.*, 1998), transformaciones que han debido dejar huellas identificables en los patrones de variabilidad genética de su flora y fauna.

Aplicar una estrategia de filogeografía comparada en el estudio de la ictiología de esta región, tiene el potencial de esclarecer la relación de la ictiofauna de la cuenca del Alto Madera con el resto de la Amazonía, y al mismo tiempo enmarcar el contexto paleoecológico de la historia evolutiva de la ictiofauna a dentro del Alto Madera. En otras regiones, este enfoque ha permitido confirmar las subdivisiones intra-específicas conocidas al mismo tiempo que ha puesto en evidencia estructuras genéticas inesperadas e incluso contrarias a las propuestas por criterios morfológicos (Bernatchez & Wilson, 1998).

Metodología

Muestreo

El presente estudio incluye seis especies con rasgos de vida contrastados y de amplia distribución en Amazonía: *Colossoma macropomum*, *Piaractus brachypomus*, *Pygocentrus nattereri*, *Pseudoplatystoma fasciatum*, *Pseudoplatystoma tigrinum* y *Cichla monoculus*.

En todos los casos se obtuvieron muestras provenientes de los principales afluentes de la cuenca hidrográfica del Alto Madera (Fig. 1): el Río Madre de Dios, el Río Beni, el Río Mamoré, el Río Yata y el Río Iténez o Guaporé. Se incluyeron muestras provenientes de dos localidades de la cuenca del Río Ucayali. De manera paralela se incluyeron diversas secuencias de la región de control mitocondrial (D-Loop) publicadas en GenBank, así como secuencias de D-Loop de especies emparentadas para ser utilizadas como grupos externos en los análisis filogenéticos.

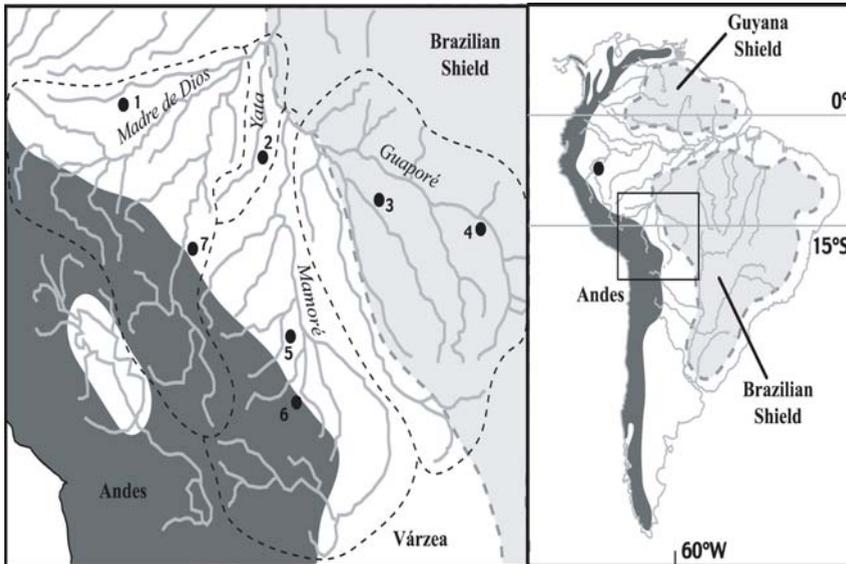


Figura 1. Ubicación de la zona de estudio y localidades de muestreo. 1, Río Manuripi; 2, Río Yata; 3, Bajo Iténez; 4, Iténez Alto; 5, Río Sécure; 6, Río Ichio; 7, Río Beni; 8, Ucayali.

Amplificación por PCR y secuenciación

Los cebadores empleados para la amplificación y la secuenciación de la región de control (DL20F: 5'ttagcaaggcgtcttgggct3', DL20R: 5'accctagctcccaaagcta3') fueron gentilmente proporcionados por J.F. Agnèse. Se trabajó bajo condiciones estándar de PCR. Las secuencias fueron encargadas a un servicio comercial.

Análisis filogenéticos

Las secuencias fueron alineadas manualmente en el editor de secuencias GenDoc (Nicholas *et al.*, 1997). Los parámetros generales como composición, número de sitios variables, informativos, recuentos de transiciones y tranversiones fueron realizados en el programa MEGA versión 3. (Kumar *et al.*, 2004).

El análisis de la relación entre los diferentes haplotipos de D-loop obtenidos fue realizado mediante algoritmos de Neighbor-Joining y Parsimonia en el programa MEGA mientras que los análisis de Máximo de Verosimilitud se efectuaron gracias al programa PhyML 2.4.3. Como pruebas de neutralidad de las secuencias se usaron el Test de Tajima (1989) y el Test de Fu y Li (1997). Bajo la hipótesis de un reloj molecular y ante la ausencia de calibraciones para las especies estudiadas, se emplearon calibraciones publicadas para grupos emparentados. Así por ejemplo se empleó un tasa de substitución nucleotídica de 1.3% por cada millón de años

(Birmingham *et al.*, 1997) para Pimelodidae y Serrasalminae, mientras que se utilizó un valor de 6 a 7% por millón de años (Volckaert *et al.*, 2002) para *Cichla monoculus*.

Resultados y Discusión

El análisis de las relaciones filogenéticas entre los diferentes haplotipos obtenidos por secuenciación de la región D-Loop para las seis especies dan como resultado varios filogramas de topologías diferentes y no congruentes (Fig. 2). Podemos distinguir básicamente cuatro casos: baja divergencia y ausencia de estructuración genética; baja divergencia pero estructuración genética entre diferentes cuencas de drenaje; divergencia media, estructuración compleja pero sin coherencia geográfica evidente y finalmente divergencia alta con estructuración fuerte en relación con la geografía (cuencas de drenaje).

En el caso de *P. fasciatum* y *P. tigrinum*, las dos especies que presentan el nivel más bajo de divergencia genética ($0.51 \pm 0.11\%$ y $0.69 \pm 0.11\%$, respectivamente), ninguna estructuración genética en grupos monofiléticos ha podido ser puesta en evidencia. La ausencia de barreras eficaces al flujo de genes en la historia evolutiva reciente de estas especies, ligada a un potencial migrador importante podría explicar tales resultados. Los haplotipos de *P. nattereri* también son igualmente poco diferenciados sin embargo y a pesar del bajo número de muestras los haplotipos del Alto-Madera parecen ser distintos de los provenientes de la Amazonía Central y Peruana.

Las dos especies, *P. brachypomus* et *C. macropomum* muestran, sobre el conjunto de la cuenca amazónica, una estructuración compleja (divergencia promedio $0.91 \pm 0.46\%$ y $1.36 \pm 0.21\%$, respectivamente), pero sin relación evidente con la configuración del sistema hidrográfico (presentado en esta publicación García *et al.*). Finalmente *Cichla monoculus* es la especie que presenta los niveles de divergencia genética más elevados (hasta 11.89%). Muestra una estructuración fuerte con linajes exclusivos del Alto Madera y un linaje exclusivo de la Amazonía peruana. Hemos identificado procesos ecológicos, actuales o pasados, como una causa potencial de la estructuración genética de esta especie, toda vez que la calidad de agua parece haber sido un factor importante en la historia evolutiva de *C. monoculus*, por lo menos en el área en estudio. Podemos concluir también que una revisión taxonómica de esta especie en el conjunto de la cuenca amazónica es necesaria.

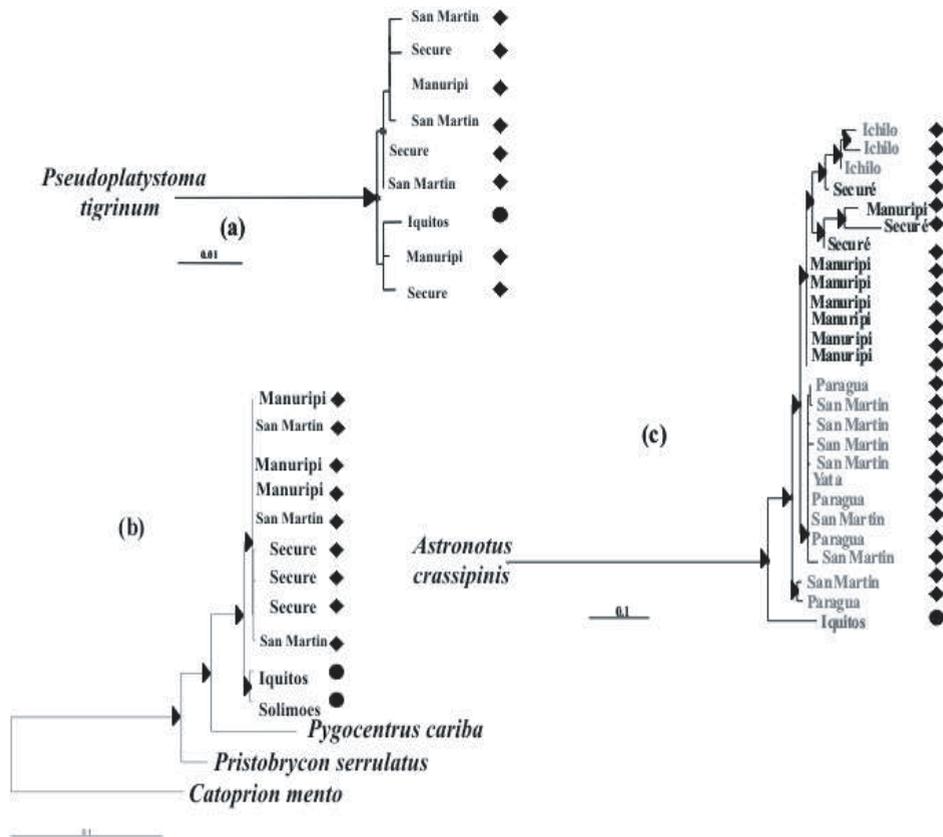


Figura 2. Relaciones filogenéticas entre los haplotipos de D-loop de (a) *Pseudoplatystoma fasciatum*, (b) *Pygocentrus nattereri* y (c) *Cichla monoculus*. Las puntas de flecha = bootstrap > 75% en Parsimonia y Máximo de Verosimilitud; rombos oscuros (Alto-Madera) y los redondos (externas al Alto Madera)

El desarrollo de este trabajo va permitir la propuesta de diferentes escenarios en el marco de procesos históricos. Gracias al uso de tres calibraciones diferentes para las velocidades de evolución molecular del ADN mitocondrial, asumimos que se han desarrollado la diferenciación entre linajes mas recientes entre el limite del Plioceno-Pleistoceno y el Pleistoceno, asociada a la formación de refugios, cuya naturaleza y ubicación quedan por definirse, y a la historia dinámica de la articulación del sistema hidrológico y tectónico de la Amazonía Occidental. Finalmente, los resultados presentados ponen en evidencia aspectos importantes para la apropiación sostenible de los recursos biológicos con consideración de la estructuración genética de las especies. La cuenca del Alto Madera no solamente es genéticamente

diversificada en lo que concierne a especies económicamente muy importantes en la Amazonía: *P. brachypomus*, *C. macropomum* y *C. monoculus*; pero además hasta ahora se ha visto libre de la sobre-explotación de los recursos ictiológicos que es característica de la amazonía central. Al mismo tiempo la acuicultura ha comenzado a interesar a los sectores económicos y de conservación. Estudios como el presente son importantes en vista a un uso racional, planificado y respetuoso del ambiente natural.

Referencias

- Avise, J. C. 2004. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Massachusetts. 684p.
- Bernatchez, L.; Wilson, C. C. 1998. Comparative phylogeography of Neoartic and Paleoartic fishes. *Molecular Ecology*, 7: 431-452.
- Kumar, S.; Tamura, K.; Nei, M.; 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5: 150-163.
- Moritz, C.; Faith, D. P. 1998. Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. *Molecular Ecology*, 7: 419-429.
- Roche, M.; Jauregui, C. F.; 1988. Water resources, salinity and salt yields of the rivers of the Bolivian Amazon. *Journal of Hydrology*, 101: 305-331.
- Guyot, J. L.; Jouanneau, J. M.; Wasson, J. G. 1999. Characterisation and suspended sediments in the Río Madeira drainage basin (Bolivian Amazonía). *Journal of South American Earth Science*, 12: 401-410.
- Goulding, M.; Barthem, R.; Ferreira, E. 2004. *The Smithsonian Atlas of the Amazon*. Smithsonian Books, Washington. 253p.
- Lundberg, J. G.; Marshall, L. J.; Guerrero, J.; Horton, B.; Malabarba, M. C. S. L.; Wesselingh, F. 1998. The stage for neotropical fish diversification: a history of tropical South American rivers. In: Malabarba, L. R.; Reis, R. E.; Vari, R. P.; Lucena, Z. M. S.; Lucena, C. R. S. (Eds.). *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. EDIPUCRS, Porto Alegre, RS. p. 13-47.