



Biología de las Poblaciones de Peces de la Amazonía y Piscicultura

**Filogenia, filogeografía y
estructura poblacional de las
especies de *Prochilodus*
(*Prochilodontidae*,
Characiformes) en las
principales cuencas fluviales
de Sudamérica**

**Guillermo Ortí, Chenhong Li,
Izeni Pires Farias**

**FILOGENIA, FILOGEOGRAFÍA Y ESTRUCTURA
POBLACIONAL DE LAS ESPECIES DE PROCHILODUS
(PROCHILODONTIDAE, CHARACIFORMES) EN LAS
PRINCIPALES CUENCAS FLUVIALES DE SUDAMÉRICA**
(genética de poblaciones)

Primera edición digital

Diciembre, 2014

Lima - Perú

**© Guillermo Ortí
Chenhong Li
Izeni Pires Farias**

PLD 1639

Editor: Víctor López Guzmán



<http://www.guzlop-editoras.com/>
guzlopster@gmail.com
[facebook.com/guzlop](https://www.facebook.com/guzlop)
twitter.com/guzlopster
731 2457 / 959 552 765
Lima - Perú

PROYECTO LIBRO DIGITAL (PLD)

El proyecto libro digital propone que los apuntes de clases, las tesis y los avances en investigación (papers) de las profesoras y profesores de las universidades peruanas sean convertidos en libro digital y difundidos por internet en forma gratuita a través de nuestra página web. Los recursos económicos disponibles para este proyecto provienen de las utilidades nuestras por los trabajos de edición y publicación a terceros, por lo tanto, son limitados.

Un libro digital, también conocido como e-book, eBook, ecolibro o libro electrónico, es una versión electrónica de la digitalización y diagramación de un libro que originariamente es editado para ser impreso en papel y que puede encontrarse en internet o en CD-ROM. Por, lo tanto, no reemplaza al libro impreso.

Entre las ventajas del libro digital se tienen:

- su accesibilidad (se puede leer en cualquier parte que tenga electricidad),
- su difusión globalizada (mediante internet nos da una gran independencia geográfica),
- su incorporación a la carrera tecnológica y la posibilidad de disminuir la brecha digital (inseparable de la competición por la influencia cultural),
- su aprovechamiento a los cambios de hábitos de los estudiantes asociados al internet y a las redes sociales (siendo la oportunidad de difundir, de una forma diferente, el conocimiento),
- su realización permitirá disminuir o anular la percepción de nuestras élites políticas frente a la supuesta incompetencia de nuestras profesoras y profesores de producir libros, ponencias y trabajos de investigación de alta calidad en los contenidos, y, que su existencia no está circunscrita solo a las letras.

Algunos objetivos que esperamos alcanzar:

- Que el estudiante, como usuario final, tenga el curso que está llevando desarrollado como un libro (con todas las características de un libro impreso) en formato digital.
- Que las profesoras y profesores actualicen la información dada a los estudiantes, mejorando sus contenidos, aplicaciones y ejemplos; pudiendo evaluar sus aportes y coherencia en los cursos que dicta.
- Que las profesoras y profesores, y estudiantes logren una familiaridad con el uso de estas nuevas tecnologías.
- El libro digital bien elaborado, permitirá dar un buen nivel de conocimientos a las alumnas y alumnos de las universidades nacionales y, especialmente, a los del interior del país donde la calidad de la educación actualmente es muy deficiente tanto por la infraestructura física como por el personal docente.
- El personal docente jugará un rol de tutor, facilitador y conductor de proyectos

de investigación de las alumnas y alumnos tomando como base el libro digital y las direcciones electrónicas recomendadas.

- Que este proyecto ayude a las universidades nacionales en las acreditaciones internacionales y mejorar la sustentación de sus presupuestos anuales en el Congreso.

En el aspecto legal:

- Las autoras o autores ceden sus derechos para esta edición digital, sin perder su autoría, permitiendo que su obra sea puesta en internet como descarga gratuita.

- Las autoras o autores pueden hacer nuevas ediciones basadas o no en esta versión digital.

Lima - Perú, enero del 2011

“El conocimiento es útil solo si se difunde y aplica”

Víctor López Guzmán
Editor

Filogenia, filogeografía y estructura poblacional de las especies de *Prochilodus* (Prochilodontidae, Characiformes) en las principales cuencas fluviales de Sudamérica

Guillermo Ortí¹, Chenhong Li¹, Izeni Pires Farias²

¹University of Nebraska, School of Biological Sciences, Lincoln,
NE 68588-0118, USA
e-mail: gorti1@unl.edu

²Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Laboratório de Evolução e
Genética Animal, ICB, Manaus, Amazonas, Brazil
e-mail: izeni@argo.com.br

Palabras Claves: ADN mitocondrial, intrón nuclear, variación genética, hibridización interespecífica.

Resumen

Análisis genéticos y filogenéticos de poblaciones de 5 de las 13 especies incluidas en el género *Prochilodus* (*lineatus*, *nigricans*, *rubrotaeniatus*, *mariae*, y *magdalenae*) en base a secuencias de ADN mitocondrial y del tercer intrón de un gen nuclear separan claramente las 5 especies en grupos monofiléticos, correspondiendo a su distribución geográfica: (Magdalena, (Orinoco, (Amazonas, Paraná))). La genealogía de alelos nucleares presenta una distribución mas compleja, pero ambos marcadores evidencian flujo génico desde el Paraná hacia el Alto Madera y Guaporé.

Introducción

El genero *Prochilodus* Agassiz, 1829 se encuentra ampliamente distribuido en ríos sudamericanos desde la cuenca del Plata (Buenos Aires Argentina) hasta el Río Magdalena (Colombia). Sus poblaciones son muy abundantes y constituyen un recurso pesquero significativo en toda el área de distribución. Una revisión taxonómica reciente (Castro & Vari, 2004), identifica 13 especies válidas con distribuciones geográficas mayormente disjuntas, pero con algunas áreas de solapamiento, notablemente en los ríos Sao Francisco (Brasil) y Amazonas, y en

ríos costeros del este de Brasil. La variación morfológica entre las especies es reducida y las grandes áreas de distribución de cada especie no han sido caracterizadas adecuadamente para evaluar el grado de variación intraespecífica y ecofenotípica, por lo que la taxonomía de este grupo ha sido notablemente problemática (Mago-Leccia, 1972). El estudio de Castro y Vari (2004) es una excelente actualización del problema sistemático en este grupo de peces pero deja sin resolver las relaciones filogenéticas entre las especies debido a la escasa variación en la morfología externa ya aludida. Con el advenimiento de métodos genético-moleculares, hemos iniciado estudios para generar evidencia genética que facilite el estudio filogenético entre estas especies y además permita establecer los patrones de variación intraespecífica. Los primeros resultados (Sivasundar *et al.*, 2001), basados exclusivamente en secuencias de ADN de dos fragmentos mitocondriales (correspondiendo al gen de la ATPasa y a la Region Control), estuvieron centrados en la variación intraespecífica de *Prochilodus lineatus* en la cuenca parano-platense (ríos Paraná, Uruguay, Paraguay y Río de La Plata). Los datos genéticos evidenciaron poca estructura poblacional y falta de diferenciación entre regiones de esta vasta cuenca fluvial, en consonancia con expectativas basadas en el comportamiento migratorio de estos peces y el gran tamaño de sus poblaciones. Aquel estudio (Sivasundar *et al.*, 2001) utilizó unos pocos ejemplares de *P. nigricans* (del Río Amazonas), de *P. mariae* (del Río Orinoco), y de *P. magdalenae* (del Río Magdalena) como grupos externos y como base para un estudio filogenético preliminar. Las secuencias de ADN mitocondrial demostraron gran utilidad para diferenciar especies y para resolver las relaciones filogenéticas (Fig. 1). Recientemente, Turner *et al.* (2004) utilizaron esta misma metodología para estudiar poblaciones de *Prochilodus* en ríos del norte se Sudamérica, especialmente en la cuencas del Orinoco y Essequibo, y su relación con las poblaciones del Río Negro en la cuenca del Amazonas. La evidencia genética demuestra que los haplotipos mitocondriales de *P. rubrotaeniatus* forman un grupo parafilético, con haplotipos de *P. mariae* estrechamente agrupados con un subgrupo de los haplotipos de *P. rubrotaeniatus*. Este trabajo también demuestra que el ADN mitocondrial de *P. mariae* parece estar sujeto a fuertes presiones de selección.

La presente contribución es una extensión de las investigaciones sobre la estructura poblacional y filogenética de especies de *Prochilodus* basadas en marcadores moleculares, con el fin de documentar el patrón de diferenciación entre especies e inferir los procesos fundamentales que afectan la dinámica evolutiva de estos peces en las grandes cuencas fluviales sudamericanas. Una reciente revisión de los principales fenómenos paleogeográficos que afectaron la evolución histórica de

las cuencas hidrográficas sudamericanas (Lundberg *et al.*, 1998) establece una base comparativa objetiva para interpretar la información genética y biológica. En particular, este trabajo presenta un análisis de un gran número de muestras de *P. nigricans* tomadas en diversas localidades de la cuenca amazónica, agrega también ejemplares de *P. rubrotaeniatus*, e incrementa la representación de *P. mariae* del Río Orinoco. Además, se incorpora por primera vez, el uso de secuencias de un intrón de un gen nuclear, ependimina (Ortí & Meyer, 1996), para complementar la perspectiva provista por los marcadores mitocondriales.

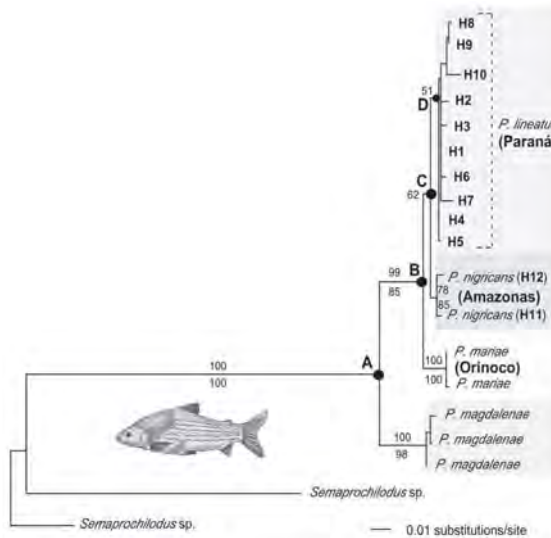


Figura 1. Filogenia molecular de 4 especies de *Prochilodus* basada en secuencias de ADN mitocondrial (ATPasa, 840 pb); tomada de Sivasundar *et al.* (2001).

Metodología

Muestras de tejido muscular fueron tomadas de peces obtenidos en las localidades indicadas en la figura 2 y preservadas en etanol 95% para el estudiogenético. La extracción de ADN y subsiguiente amplificación de los fragmentos mitocondriales via PCR sigue los protocolos publicados por Sivasundar *et al.* (2001). El intron 3 del gen nuclear que codifica la ependimina (una glucoproteína cerebral caracterizada en diversos vertebrados) fue amplificado por la misma vía con la utilización de iniciadores (primers) diseñados en base a secuencias exónicas de este gen obtenidas a partir de ARN mensajero (via RT-PCR). Para obtener secuencias completas de cada alelo presente en individuos heterocigotas, los productos de

PCR fueron clonados y varios clones aislados fueron secuenciados para confirmar la secuencia intrónica.



Figura 2. localidades de muestreo de ejemplares de *Prochilodus* utilizados en este estudio.

Secuencias de ADN mitocondrial y nuclear fueron alineadas y sometidas a diversos análisis filogenéticos y genético-poblacionales para estudiar la variación inter e intra-específica. Los árboles filogenéticos obtenidos se comparan con las localidades de origen de las muestras y las denominaciones taxonómicas para elaborar y contrastar hipótesis filogeográficas (Avice, 2000). La posibilidad de recombinación en las secuencias nucleares se evaluó a partir de la distribución de inserciones y deleciones («indeles») que causan variación en la longitud de los alelos caracterizados. Este método comparativo también se utilizó para generar hipótesis filogeográficas y contrastarlas con aquellas derivadas de los análisis filogenéticos.

Resultados y Discusión

Un total de más de 100 individuos de 5 especies nominales (Fig. 2) fueron analizados para este estudio (el trabajo aun continúa a la fecha de preparación de este resumen). La variación genética a nivel de la Región Control en el ADN mitocondrial (207 sitios en 1150 pb) permitió diferenciar 87 haplotipos únicos entre los ejempla-

res estudiados, mientras que la variación entre las secuencias del gen nuclear (420 sitios en 1900 pb) identificaron 153 variantes alélicas.

Los análisis filogenéticos de haplotipos mitocondriales muestran el mismo patrón que se presenta en la figura 1, con excepción de la inclusión de haplotipos de *P. rubrotaeniatus* (del Río Rupununi, afluente del Essequibo en Guyana) en el clado de haplotipos amazónicos de *P. nigricans*. Todos los haplotipos de *P. nigricans*, provenientes de localidades ampliamente distribuidas en la cuenca amazónica (Fig. 1) forman un grupo monofilético bien definido, con excepción de dos haplotipos provenientes de individuos del alto Madera y el Río Mamoré (Bolivia). Estos se agrupan inequívocamente con los haplotipos de *P. lineatus* de la cuenca parano-platense, documentando por primera vez eventos de migración entre el alto Paraguay y la cuenca amazónica. La diversidad genética de haplotipos mitocondriales en la cuenca parano-platense es similar a la de los amazónicos, un resultado inesperado considerando las dimensiones geográficas de ambos sistemas hidrográficos. En consonancia con los resultados de Turner *et al.* (2004), la variación genética en poblaciones de *P. mariae* del Orinoco es sumamente reducida.

El análisis filogenético de alelos nucleares (intrón 3 de ependimina) muestra un patrón de relaciones más complejo. Esto es anticipado, en parte, debido al mayor tamaño poblacional efectivo (N_e) de este marcador genético en comparación con los marcadores mitocondriales. En particular, la genealogía de alelos nucleares no presenta grupos monofiléticos correspondientes a la taxonomía ni al origen geográfico (cuencas fluviales) de las muestras. Alelos con proveniencia amazónica y parano-platense aparecen entremezclados con los del Essequibo y un par de alelos de peces del Orinoco. Las mismas muestras del alto Madera y Mamoré que mostraban afinidades mitocondriales con peces del alto Paraguay también exhiben estrecha relación genealógica con respecto a sus alelos nucleares, reforzando la evidencia de migraciones e introgresión de genes de *P. lineatus* en poblaciones de *P. nigricans*. La distribución filogenética de alelos de estas dos especies sugiere que los eventos de hibridización han sido frecuentes en la historia evolutiva de estas especies. Del mismo modo que la variación genética a nivel mitocondrial es similar entre estas dos cuencas hidrográficas, el marcador nuclear indica niveles similares de variación nucleotídica, y una variación proporcional en la cuenca del Orinoco. Este patrón contrasta con la poca variación mitocondrial en peces del Orinoco, sustentando la hipótesis de Turner *et al.* (2004) del efecto de la selección natural sobre el genoma mitocondrial.

La variación alélica en el intrón de ependimina incluye 10 sitios de inserción/delección (indeles), que varían en longitud desde 3 pb hasta 410 pb. La caracterización de los

10 sitios con indeles (presencia o ausencia del segmento) entre los alelos estudiados determina 16 tipos de configuración, e implica al menos 5 eventos de recombinación en este segmento del genoma nuclear. Los alelos recombinantes se encuentran en baja frecuencia entre las muestras. En cambio, dos configuraciones de indeles aparecen con alta frecuencia entre los alelos caracterizados (en 55 y 67 alelos, respectivamente, de los 187 analizados) Estos son compartidos por todas las especies estudiadas y su distribución geográfica abarca todas las cuencas fluviales, sugiriendo una prolongada edad evolutiva. El análisis de la configuración de indeles agrega un panorama temporal mas extendido a la interpretación de la variación genética detectada. Esta distribución alélica sugiere que el flujo génico a nivel continental (entre las principales cuencas fluviales) ha sido elevado y frecuente en la historia evolutiva de estas especies. Esta hipótesis es consistente con la gran homogeneidad morfológica que caracteriza las especies de *Prochilodus* y que ha dificultado tanto la taxonomía de estos peces. El objetivo a largo plazo de estos estudios es caracterizar todas las especies nominales del género con estos marcadores genéticos para obtener un panorama a nivel continental de las relaciones genealógicas entre poblaciones que actualmente ocupan las distintas cuencas fluviales.

Referencias

- Avice, J. C. 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Castro, R. M. C.; Vari, R. 2004. Detritivores of the South American fish family Prochilodontidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes): A phylogenetic and revisionary study. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 622, 189 p.
- 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.
- Mago-Leccia, F. 1972. Consideraciones sobre la sistemática de la familia Prochilodontidae (Osteichthyes, Cypriniformes) con una sinopsis de las especies de Venezuela. *Acta Biológica Venezuelica*, 8: 35-96.
- Ortí, G.; Meyer, A. 1996. Molecular evolution of ependymin and the phylogenetic resolution of early divergences among teleost fishes. *Molecular Biology and Evolution*, 13: 556-573.

- Sivasundar, A.; Bermingham, E.; Ortí, G. 2001. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (*Prochilodus*: Characiformes) in major South American rivers. *Molecular Ecology*, 10: 407-418.
- Turner, T. F.; Mcphee, M. V.; Campbell, P.; Winemiller, K. O. 2004. Phylogeography and intraspecific genetic variation of prochilodontid fishes endemic to rivers of northern South America. *Journal of Fish Biology*, 64: 186–201.



Biología de las Poblaciones de Peces de la Amazonía y Piscicultura

Coloquio Internacional
27 de Junio - 1 de Julio de 2005
Iquitos, Perú

Red de Investigación sobre la Ictiofauna Amazónica

Editores:

J.-F. Renno

C. García-Dávila

F. Duponchelle

J. Nuñez

