



Alerinos de Arawana. Eric Argumedo Awica- Florencia 2008

A photograph of an Arawana fish, also known as a silver arowana, resting on a light-colored surface. The fish is elongated and tapers towards the tail, with a prominent dorsal fin and a large eye. The background is a neutral, light brown color.

ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE *OSTEOGLOSSUM BICIRRHOSUM* MEDIANTE MARCADORES MITOCONDRIALES EN LA AMAZONIA COLOMBIANA

Juan Camilo Bonilla^{ac}; Victor Piñeros^b; Edwin Agudelo^a; Gladys Cardona^a; Francisco Villa^c

Arawana - Cesar Bonilla

RESUMEN

La forma de explotación de la Arawana blanca ha llevado a su categorización para Colombia como especie vulnerable de extinción (VU), esta especie es un recurso económico muy importante para las familias de la región amazónica colombiana, razón por la que debe dársele un manejo específico para su conservación. Con la finalidad de aportar conocimientos, se analizó la variabilidad genética de las regiones *COI* y *Cyt b* en individuos de Arawana Blanca de las localidades de La Pedrera, Puerto Leguízamo, Tarapacá y Leticia en la Amazonia colombiana.

Se encontró una baja variabilidad genética para los marcadores *COI* ($\pi=0,00041$ y $Hd=0.2390$) y *Cyt b* ($\pi=0,00033$; $Hd=0.1321$), identificándose 7 haplotipos para *COI* y 3 haplotipos para *Cyt b*. De acuerdo a los análisis genético-poblacionales y filogenéticos se infiere que posiblemente las poblaciones de Arawana blanca en la amazonia colombiana comparten una historia evolutiva, y que debido al limitado flujo de genes (aspectos biológicos) y por ende una posible diferenciación genética, es necesaria la implementación de planes de manejo específicos para estas poblaciones; resaltando que todas son de igual

importancia en el mantenimiento de la variabilidad genética de la especie. Sin embargo, es necesaria la elaboración de estudios moleculares posteriores que otorguen una información más consistente del estado actual y distribución de la variabilidad genética en las poblaciones de Arawana blanca en la región amazónica colombiana.

Palabras Clave

ADNmt, Arawana blanca, Amazonia, Pesca, Conservación.

ABSTRACT

The aggressive form of exploitation of the silver Arowana has led to its categorization for Colombia as vulnerable species (VU), this species is an important economic resource for the families of the Colombian Amazon, making it necessary a specific management for its conservation. In order to provide genetic knowledge in developing management plans for this species, we analyzed the genetic variability of the *COI* and *Cyt b* regions in individuals of silver Arawana from the market in the locations La Pedrera, Puerto Leguizamo, Tarapaca and Leticia in the Colombian Amazonia.

We found a low genetic diversity for *COI* ($\pi=0,00041$ y $Hd=0.2390$) and *Cyt b* ($\pi=0,00033$; $Hd=0.1321$), 7 haplotypes was iden-

^a Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas – SINCHI

^b Instituto de Ecología A.C.

^c Universidad del Tolima

tified for COI and 3 haplotypes for Cyt b. According to population-genetic and phylogenetic analysis, we infer that populations of silver Arowana in the Colombian Amazonia possibly share an evolutionary history and that due to limited gene flow (biological aspects) and thus a possible genetic differentiation is necessary implementation of specific management plans for these populations, noting that all are equally important in maintaining genetic variability of the species. However, it's necessary to elaborate further molecular studies that give a more current status and distribution of genetic variability in populations of silver Arowana in the Colombian Amazon.

Key Words

ADNmt, Silver Arowana, Amazonia, Fishing, Conservation.

INTRODUCCIÓN

El comercio de peces ornamentales se ha ido posicionando como uno de los mercados en auge en Colombia, teniendo como muestra de ello valores aproximados de exportación de US\$8'500.087 para el año 2009, correspondientes a la comercialización de 22'034.698 de individuos (pertenecientes a 36 familias) (MADR-CCI, 2009). Los principales aportes para este comercio se realizan desde la región de la Orinoquía y Amazonia, en donde casi la totalidad de individuos comercializados son extraídos desde el medio natural, generando desequilibrios y deterioros tanto en las poblaciones de las especies de interés comercial como en los ecosistemas hídricos (Mancera & Álvarez, 2008).

Como consecuencia de su atractivo mercado y alto valor comercial, la Arawana blanca *Osteoglossum bicirrhosum* (Cuvier, 1829), se encuentra dentro de las principales especies comercializadas con fines ornamentales en la región amazónica colombiana; alcanzando estimaciones de extracción de 2'379.836 unidades vivas durante la temporada de pesca 2004-2005 en la ciudad de Leticia y su zona de influencia fronteriza con Perú y Brasil (Rodríguez, 2007). Paralelamente, la presencia de un mercado de contrabando en la frontera Colombo-Brasilera con estimaciones de movilidad de 720 mil individuos para el 2008, permite deducir sobre la pesca con fines ornamentales como

la principal presión ecológica sobre esta especie (Lima & Prang, 2008; Sánchez & Alonso, 2003).

Según Mancera y Álvarez (2008), una perturbación considerable hacia las poblaciones de peces con importancia ornamental en la Amazonia y Orinoquia colombiana es la extracción de un elevado número de sus individuos, más aun cuando esta extracción se realiza sobre individuos que no han alcanzado su madurez sexual (alevines y juveniles), como es el caso de la Arawana blanca.

No obstante, el comercio ornamental no es la única presión pesquera ejercida sobre la Arawana blanca, ya que de los machos adultos capturados para extraer sus crías (por la presencia de cuidado parental) en la zona trifronteriza (Colombia-Brasil-Perú), al menos el 25% es consumido por la población local (Fabrè & Alonso en Rodríguez, 2007; Salinas & Agudelo, 2000).

Por lo tanto, debido a la presión de pesca a la cual se viene enfrentado, tanto ornamental como de consumo, y a la falta de estudios que permitan reconocer el real grado de explotación de sus poblaciones, la Arawana Blanca fue clasificada de manera precautoria en el Libro Rojo de Peces Dulceacuícolas de Colombia, como vulnerable a la extinción (Álvarez, 2002; Sánchez *et al.* 1996).

En biología de la conservación la selección de unidades de conservación para una especie se lleva a cabo bajo múltiples criterios, dentro de los que encontramos la información filogeográfica; que provee una comprensión indirecta de los eventos históricos de las poblaciones (ej. patrones y aislamientos geográficos y genéticos, flujo génico) y una inferencia de la distribución actual de la diversidad genética, conocimientos claves en la búsqueda del mantenimiento de procesos evolutivos en poblaciones naturales (Frankham *et al.* 2002; Moritz, 1999).

EL ADN mitocondrial (ADNmt) ha sido utilizado ampliamente como herramienta molecular en la generación de información filogeográfica y filogenética con fines de conservación en distintos grupos animales (Hickerson *et al.* 2010, Moritz, 1999). En este estudio se empleo como marcadores moleculares mitocondriales los genes Citocromo Oxidasa I (COI) y Citocromo b (Cyt b).

COI es el gen insignia del proyecto “Barcode of the Life”, iniciativa que a partir de la secuenciación de este gen, pretende junto con la taxonomía clásica lograr una identificación y discriminación taxonómica de especies “más acertada” (Ardura *et al.* 2010; Steinke *et al.* 2005; Ward *et al.* 2005). Por otro lado, el gen *Cyt b* ha sido utilizado ampliamente como herramienta molecular para estudios filogenéticos en diferentes grupos de vertebrados (Briolay *et al.* 1998 en Mohd-Shamsudin *et al.* 2011; Edwards, 1991; Irwin, 1991), y particularmente en peces (Farias *et al.* 2001).

Es por ello, que siendo consecuentes con la dependencia económica por parte de las familias de pescadores de la región amazónica hacia el comercio de la Arawana blanca (INCODER, 2006 en Mancera & Álvarez, 2008; Rodríguez, 2007), y por la manera lesiva con que se realiza su extracción, es de vital importancia desarrollar estudios en el ámbito de la genética de la conservación (ej. historia evolutiva y diversidad genética) que proporcionen elementos de manejo para este recurso natural (Galetti *et al.* 2008, Frankham *et al.* 2002; Moritz, 1999). Razones significativas que impulsaron la realización del presente trabajo.

MÉTODOS

Extracción de ADN

Se realizó la colecta de 118 muestras de tejido (músculo y aletas) a partir de individuos de Arawana blanca provenientes del mercado en las localidades de La Pedrera (19), Puerto Leguísimo (57), Tarapacá (9) y Leticia (33) en la amazonia colombiana. La extracción de ADN se realizó empleando Kits comerciales DNeasy® Blood & Tissue Kit (50) de Qiagen y ZR Genomic DNATM TissueMicroprep de ZymoResearch. Posteriormente fue verificada la calidad y concentración de ADN a través de un gel de agarosa al 0.8% teñido con bromuro de etidio.

Amplificación y Secuenciación de ADN:

La amplificación de la región *COI* se llevó a cabo empleando los primers COIF3 (5'-TCAACYAAT CAYA-AAGATATYGGCAC-3') y COIR3 (5'-ACTTTCYGGG-TGRC CRAARAATCA-3') utilizados por Ward *et al.*

(2005). Se realizó un mix de reacción de 25uL (2.5uL de Buffer de PCR (10X), 1.25uL de MgCl₂ (50mM), 0.5uL de dNTPs (10mM), 0.5uL de cada primer (10mM), 0,15uL de BSA (5X), 1U de Taq polimerasa (Invitrogen), 1uL de ADN y 18.4uL de agua ultrapura), siguiendo el perfil de amplificación propuesto por Ward *et al.* (2005): un ciclo de 95°C por 2 minutos, 94°C por 30 segundos, 56°C por 30 segundos y 72°C por 60 segundos, por 35 ciclos, y un ciclo de 72°C por diez minutos.

Para la amplificación de la región *Cytb* se utilizaron los primers **Gludg** (5-TGACTTGAARAACCAAYCG-TTG-3) y **CB2** (5-CCCTCAGAATGATATTTG-TCCTC A-3) propuestos por Palumbi (1996). El mix de reacción tuvo un volumen final de 25uL (2.5uL de Buffer de PCR (10x), 2.5uL de MgCl₂ (50mM), 1.5uL de dNTP's (10mM), 0.825uL de cada primer (10uM), 0.15uL de BSA (100ug/uL), 0.1uL de Taq Polimerasa (5u/uL), 2uL ADN y 14.6uL agua ultrapura). Se utilizó una temperatura de denaturación inicial de 94°C por 2 min, 34 ciclos de denaturación a 94°C por 30s, 55°C de anillamiento por 45s y 72°C de extensión por 40s, con una extensión final de 72°C por 10 min.

Para la secuenciación de los productos de PCR se envió un volumen de 100uL (± 40 ng) a BIOMOL (Colombia), empleándose para esa reacción la misma pareja de primers utilizados en la amplificación de cada gen.

Edición de Secuencias

Debido a que no se obtuvo secuencias L y H para todas las muestras procesadas, solo se logró recopilar un total de 99 muestras para *COI* y 44 muestras para *Cyt b*. La compilación de las secuencias L y H se realizó a través del programa Bioedit (Hall, 1999), y posteriormente se utilizó el programa DnaSP v5 (5.10.01) (Librado & Rozas, 2009) para traducir las secuencias a aminoácidos y verificar la ausencia de codones de parada. Se realizó un alineamiento de las 99 secuencias de *COI* y de las 44 secuencias de *Cyt b* empleando el programa Clustal W (Thompson *et al.* 1994) sobre la plataforma del programa MEGA 5.05 (Tamura *et al.* 2011). Se obtuvieron dos matrices de alineamiento de las cuales se partió para la realización de los análisis genético-poblacionales y filogeográficos.

Análisis Genético-Poblacionales

Se realizaron análisis de variabilidad genética y polimorfismos de DNA empleando los programas DnaSP v5 (5.10.01) (Librado & Rozas, 2009) y Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier, 2010). Los parámetros calculados fueron: diversidad nucleotídica (π), diversidad haplotípica (h), número de haplotipos, número de sustituciones. El análisis de F_{st} pareado se realizó empleando el programa Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier, 2010). En este estudio no se realizó un análisis de AMOVA debido a que las cuencas muestreadas no presentan igual número de puntos de colecta.

Análisis Filogeográfico

Estos análisis fueron realizados bajo el criterio de máxima verosimilitud (Maximum Likelihood - ML) (Felsenstein, 1981), en donde se escogieron los 2 mejores modelos evolutivos que se ajustaran a los datos (regiones *COI* y *Cyt b* por separado) en base al criterio BIC, utilizando la plataforma del programa MEGA 5.05 (Tamura *et al.* 2011). Según estos análisis los modelos evolutivos que mejor se ajustan a los datos son Tamura-Nei y Kimura 2p para *COI* y Tamura 3p y Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) para *Cyt b*.

Posteriormente, se llevó a cabo el análisis de Máxima Verosimilitud en el programa MEGA 5.05 (Tamura *et al.* 2011) utilizando 10.000 repeticiones como soporte; se empleó como grupo externo para este análisis las secuencias de *COI* y *Cyt b* (NCBI accesión: NC 010570) de *Arapaima gigas*, ya que la especie hermana *Osteoglossum ferreirai* no posee accesiones en bases de datos para el gen *COI*.

RESULTADOS

La matriz para la región *COI* presentó una longitud de 585pb, y la matriz para la región *Cyt b* presentó una longitud de 392pb. Se calculó la media para la composición de bases nucleotídicas para cada gen, encontrándose las proporciones A (25.855%), G (16.4375%), T (31.8425%) y C (26.0375%) para *COI*; y A (27.1725%), G (14.6125%), T (27.455%) y C (30.76%) para *Cyt b*.

Análisis Genético-Poblacionales

Para la región *COI* se encontraron 7 haplotipos en las 99 secuencias analizadas, siendo el Haplotipo 2 el más frecuente y el de mayor distribución, presentándose en 92 de los 99 individuos de las 4 localidades (Tabla 1 y Figura 1). Los 6 haplotipos restantes se encontraron restringidos a una única localidad, y 5 de estos (H1, H3, H4, H6 y H7) se presentaron en un único individuo. La localidad de Leticia y Tarapacá presentaron los valores más altos de diversidad nucleotídica y haplotípica respectivamente. A pesar de tener el mayor número de muestras, la localidad de Puerto Leguizamo presentó los valores más bajos de diversidad nucleotídica y haplotípica.



Arawana - Cesar Bonilla

TABLA 1. RESULTADOS GENÉTICO-POBLACIONALES PARA *COI*

Localidad	n	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	(π)	Hps	(h)	Sust.
Tarapacá	10	1	8	1					0.00037	3	0.300	1 (Ts)
Pto. Leguizamo	43		43						0	1	0	0
Leticia	27		23			2	1	1	0.00050	4	0.276	3 (Ts)
La Pedrera	19		18		1				0.00016	2	0.048	0
Todas	99	1	92	1	1	2	1	1	0.00041	7	0.239	4

(n= número de muestras; π = Diversidad nucleotídica; Hps= N° Haplotipos; h= Diversidad haplotípica; Sust.= N° sustituciones (Ts= transiciones y Tv= Transversiones))

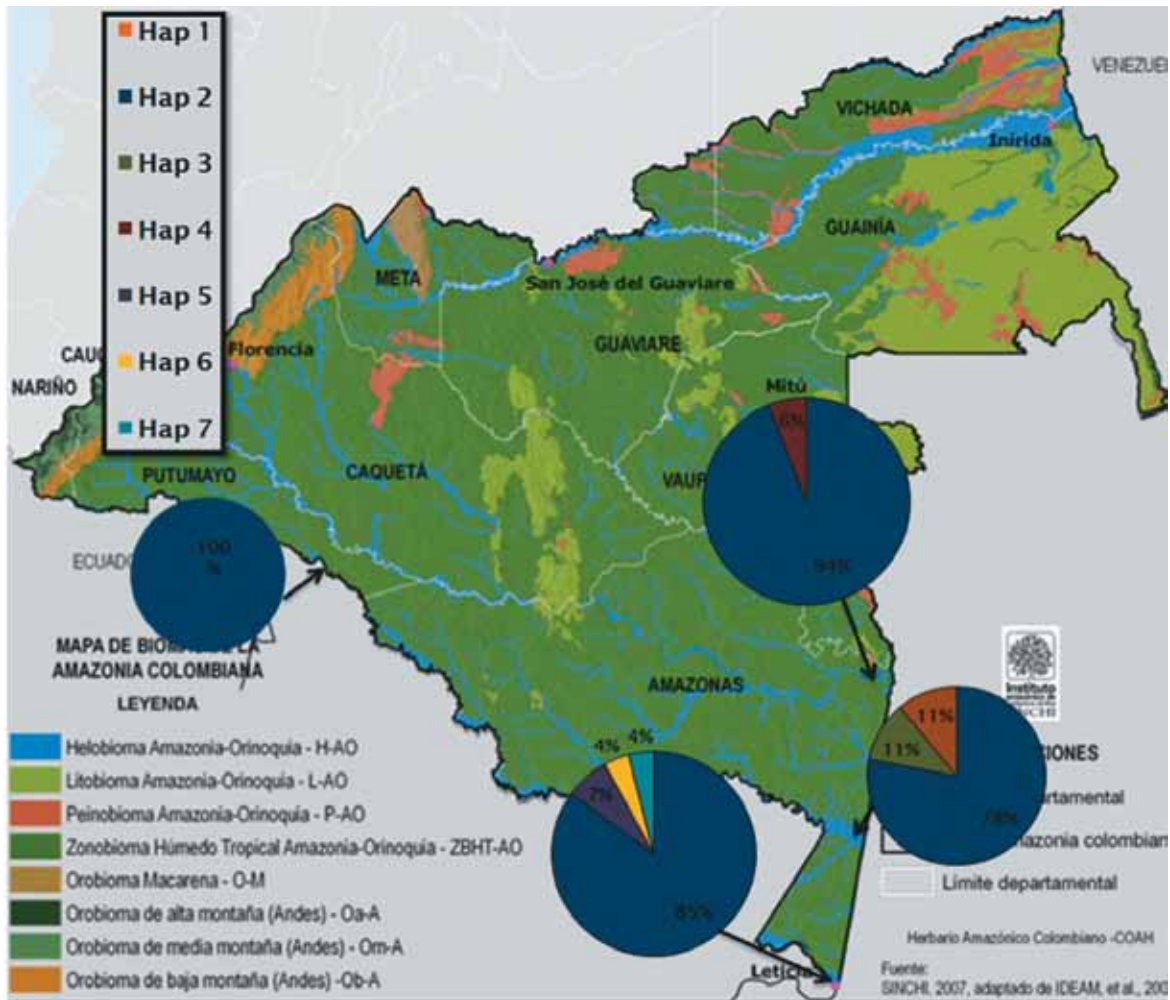


FIGURA I. FRECUENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE HAPLOTIPOS DE COI.

En cuanto a los resultados para las 44 secuencias de *Cyt b*, se identificaron 3 haplotipos, el Haplotipo 1 fue el más frecuente presentándose en 41 de los 44 individuos y el único presente en las 4 localidades de

estudio (Tabla 2 y Figura 2). Solo se encontró un haplotipo restringido a una única localidad (Haplotipo 3). La localidad que presentó los valores más altos de diversidad nucleotídica y haplotípica fue Tarapacá.

TABLA 2. RESULTADOS GENÉTICO-POBLACIONALES PARA CYT B

Localidad	n	H1	H2	H3	(π)	Hps	(h)	Ssut.
Tarapacá	7	6	1		0.00073	2	0.286	1 (Tv)
Pto. Leguízamo	11	10		1	0.00047	2	0.182	1 (Tv)
Leticia	16	16			0	1	0	0
la Pedrera	10	9	1		0.00033	2	0.130	1 (Tv)
Todas	44	41	2	1	0.00033	3	0.1321	1

(n = número de muestras; π = Diversidad nucleotídica; Hps = N° Haplotipos; h = Diversidad haplotípica; Ssut. = N° sustituciones (Ts = transiciones y Tv = Transversiones))

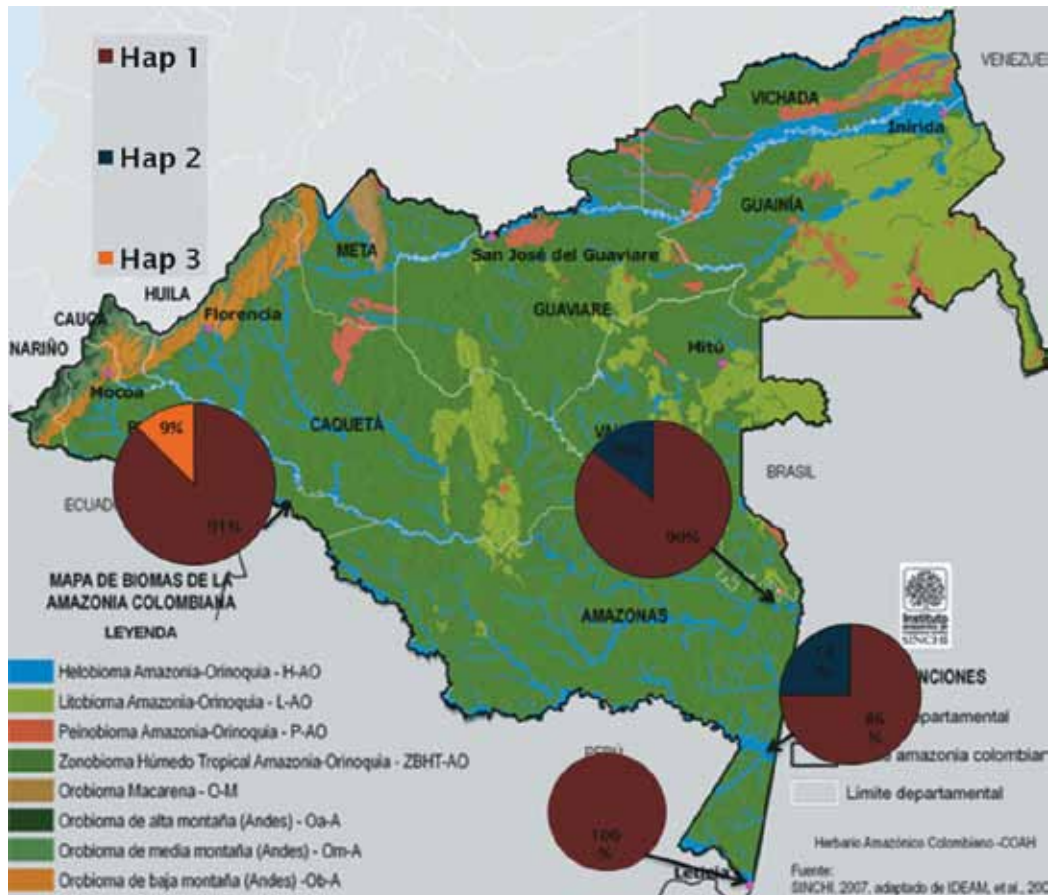


FIGURA 2. FRECUENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE HAPLOTIPOS DE CYT B.

Los resultados para el índice F_{st} arrojaron valores poco significativos para los dos marcadores, en donde solo se encontraron valores significativos entre las

localidades de Tarapacá-Puerto Leguísimo (0.32812; $p=0.02802$) y Puerto Leguísimo-Leticia (0.02049; $p=0.02049$) para el gen *COI* (Tabla 3 y 4).

TABLA 3. VALORES DE F_{ST} CALCULADOS PARA *COI* EN LAS CUATRO LOCALIDADES DE COLECTA. (10100 PERMUTACIONES. NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.0500). *VALORES SIGNIFICATIVOS.

	Tarapacá	Pto. Leguísimo	Pedreira	Leticia
Tarapacá	-----			
Pto. Leguísimo	0.32812 (0.02802)*	-----		
Leticia	0.0473 (0.24443)*	0,05393 (0.29047)	-----	
Pedreira	-0.01214 (0.45580)*	0,10125 (0.02049)*	0,00083 (0.38174)	-----

TABLA 4. VALORES DE F_{ST} CALCULADOS PARA CYT B EN LAS CUATRO LOCALIDADES DE COLECTA. (10100 PERMUTACIONES. NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.0500). *VALORES DE SIGNIFICANCIA.

	Tarapacá	Pto. Leguísimo	Pedreira	Leticia
Tarapacá	-----			
Pto. Leguísimo	-0,04804 (0,99990)	-----		
Leticia	0,12840 (0,29710)	0,03562 (0,41016)	-----	
Pedreira	-0,12814 (0,99990)	-0,04963 (0,9990)	0,04950 (0,38402)	-----

Análisis Filogeográficos

En los análisis filogeográficos para *COI* se observó en las topologías presentadas la conformación de un grupo monofilético para los 7 haplotipos encontrados, reflejando la poca divergencia entre estos. No se observó una diferenciación de gru-

pos monofiléticos de haplotipos por localidades, siendo esto concordante con la distribución y frecuencia presentadas por el Haplotipo 2, el cual se encontró en todas las localidades y en la mayoría de individuos, postulándose según los modelos escogidos (Tamura-Nei) como haplotipo ancestral (Figura 3 y 4).

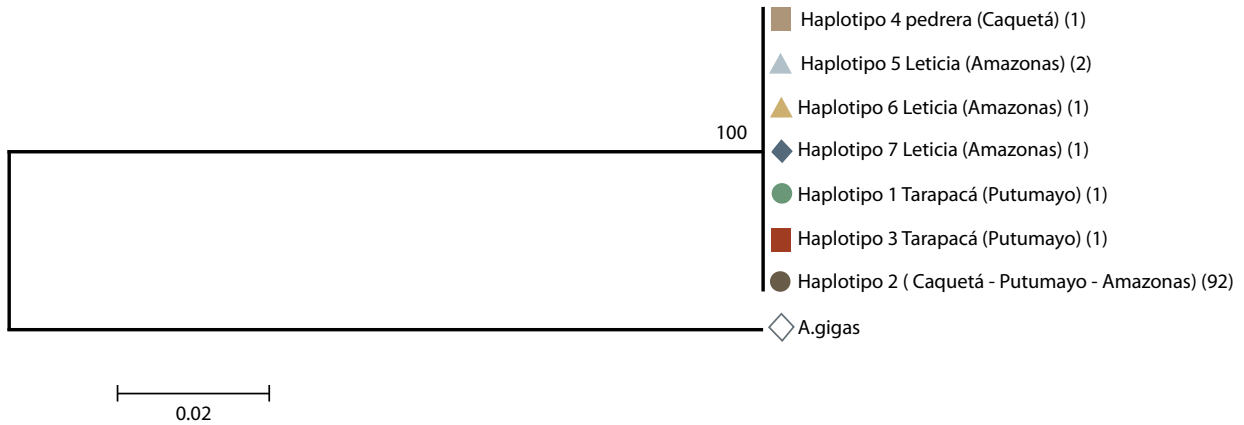


FIGURA 3. ÁRBOL DE MÁXIMA VEROSIMILITUD HAPLOTIPOS *COI*. KIMURA-2P. ENTRE PARÉNTESIS SE ENCUENTRA EL NÚMERO DE INDIVIDUOS QUE PRESENTARON EL HAPLOTIPO.

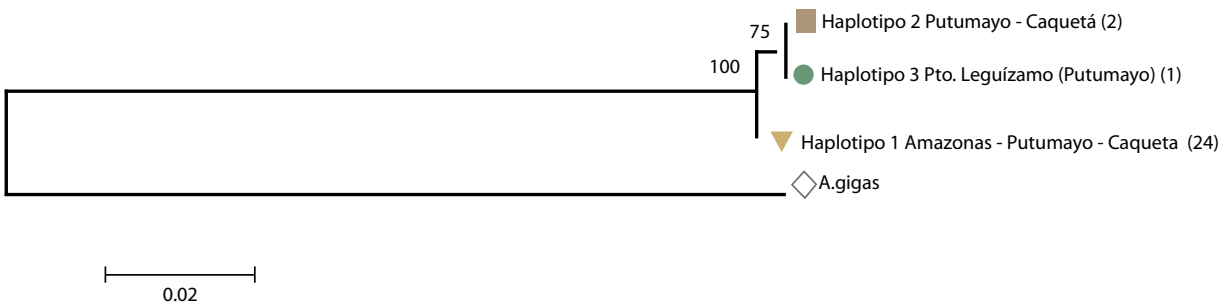


FIGURA 4. ÁRBOL DE MÁXIMA VEROSIMILITUD HAPLOTIPOS *COI*. TAMURA-NEI. ENTRE PARÉNTESIS SE ENCUENTRA EL NÚMERO DE INDIVIDUOS QUE PRESENTARON EL HAPLOTIPO.

En cuanto a los análisis filogenéticos para los haplotipos encontrados para el marcador *Cytb*, se permite una resolución clara para estos tres haplotipos, encontrándose el Haplotipo 1 como el haplotipo ancestral

y con mayor frecuencia, del cual posiblemente se han derivado los haplotipos 2 y 3, los cuales se encuentran restringidos a la región Norte de la Amazonía Colombiana (Figuras 5 y 6).

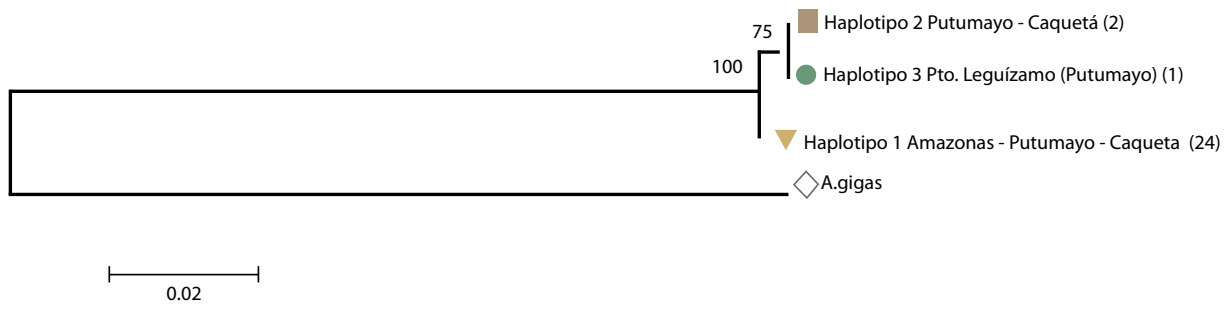


FIGURA 5. ÁRBOL DE MÁXIMA VEROSIMILITUD HAPLOTIPOS CYTB. MODELO HKY. ENTRE PARÉNTESIS SE ENCUENTRA EL NÚMERO DE INDIVIDUOS QUE PRESENTARON EL HAPLOTIPO.

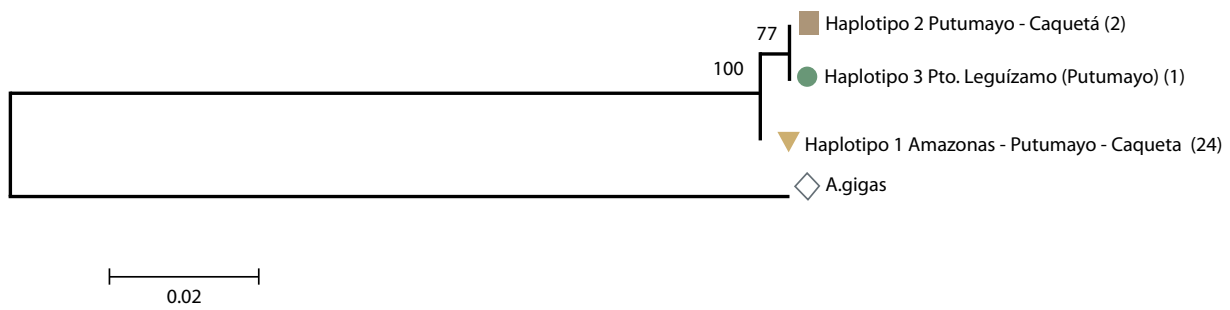


FIGURA 6. ÁRBOL DE MÁXIMA VEROSIMILITUD HAPLOTIPOS CYTB. TAMURA 3P. ENTRE PARÉNTESIS SE ENCUENTRA EL NÚMERO DE INDIVIDUOS QUE PRESENTARON EL HAPLOTIPO.



DISCUSIÓN

Análisis Genético-Poblacionales

Se encontró una baja diversidad nucleotídica y haplotípica para los dos marcadores. Para *COI* se reportaron bajos valores de diversidad genética ($\pi=0,00041$ y $Hd=0,2390$), información comparada con las diversidades reportadas por Mohd-Shamsudin *et al.* (2011) en las arawanas *Osteoglossum bicirrhosum* ($\pi=0,00080$ y $Hd=0,406$) y *Scleropages formosus* ($0,0000 < \pi > 0,00412$ y $0,000 < Hd > 1,000$) para este gen; al igual que otros estudios para *COI* en diferentes especies de peces (Ward *et al.* 2005). No obstante, el estudio llevado a cabo por Mohd-Shamsudin *et al.* (2011) presenta un área geográfica de estudio más extensa que la del presente estudio, además de un bajo número de individuos por variedad (población) que no excede de 10; razones que podrían llevar a reportar una “mayor” diversidad nucleotídica y haplotípica en la Arawana asiática.

COI se ha reportado como un marcador relativamente conservado a nivel intraespecífico, el cual ha sido ampliamente utilizado en estudios interespecíficos (Pallumbi & Benzei, 1991), nivel taxonómico en donde llega a presentar una mayor variabilidad. Esta razón lo ha llevado a convertirse en la herramienta principal para el “Barcode of the Life”.

Los resultados para la región *Cyt b* reportaron bajos valores de diversidad genética ($\pi=0,00033$; $Hd=0,1321$) en comparación a lo reportado para la arawana asiática *Scleropages formosus* ($0,00084 < \pi > 0,00675$ y $0,476 < Hd > 0,750$) (Mohd-Shamsudin *et al.* 2011) en sus diferentes morfotipos de color. El gen *Cytb* presentó los valores más bajos de diversidad nucleotídica, resultados que difieren de algunos estudios en peces (Miya & Nishida, 2000 en Page & Hughes, 2010) y para la Arawana asiática (Mohd-Shamsudin *et al.* 2011) donde se ha reportado una mayor variabilidad de *Cytb* en comparación con *COI*. Sin embargo, es preciso resaltar la diferencia en el número de muestras para cada gen.

Por otro parte, los valores más altos y los únicos significativos para el índice *Fst* presentados por la rela-

ciones pareadas de Pto Leguízamo-Tarapacá (0,32812 (0,02851)) y Pto Leguízamo – Leticia (0,10125 (0,02079)), nos sugieren un posible flujo limitado de genes entre las localidades estudiadas, es decir, se podría presentar una estructuración poblacional para la Arawana blanca en la Amazonia colombiana.

Esta posible estructuración poblacional, podría ser soportada en concordancia con los resultados encontrados en estudios genético-poblacionales mediante SSR para esta especie en la Amazonia peruana y brasileña (Chota, 2011; Silva, 2009). Igualmente, aspectos biológicos tales como: comportamientos migratorios restringidos, gran tamaño de los huevos y la posterior retención de larvas para cuidado parental reportado en la Arawana blanca; dificultarían una amplia dispersión de individuos, llevando a una diferenciación genética intrapoblacional (Álvarez, 2000; Planes *et al.* 2001 en Silva, 2009; Rabello-Neto & Chão, 2008; Sánchez *et al.* 2010; Silva *et al.* 2009).

Análisis Filogeográficos

Para *COI* y *Cyt b* se observó la presencia de un posible haplotipo ancestral del cual se han derivado el resto de haplotipos aquí identificados. Esto podría deberse al limitado intercambio genético que se ha reportado para las poblaciones de Arawana blanca (Chota, 2011; Silva, 2009), ya que este es un factor que conlleva al desarrollo de procesos evolutivos independientes, en donde se generan mutaciones aisladas, en términos geográficos.

Silva, (2009) encontró una diferenciación genética significativa entre las poblaciones occidentales y orientales de Arawana blanca en la Amazonía brasileña; no obstante reportó la presencia de un haplotipo ancestral compartido en 15 de las 16 poblaciones estudiadas, resultados muy similares a lo encontrado para los marcadores *COI* y *Cyt b* en este estudio. Adicionalmente sugiere la diferenciación de las poblaciones de Arawana blanca a partir de un único “stock ancestral” que pudo haberse presentado en la Amazonia occidental.

Este planteamiento podría verse apoyado en eventos geológicos que han modificado los ecosistemas acuáticos en la región amazónica (ej. rompimiento arco

del Purus y posterior establecimiento del sistema fluvial transcontinental Andes-Atlántico), y que por ende han sido influyentes en la discusión de la historia evolutiva de especies peces para esta región (Lovejoy et al. 2010). El Arco del Purus fue una barrera geológica que separó la Amazonía occidental de la Amazonia oriental desde el Paleozoico hasta el Mioceno tardío, período en el que debido a su rompimiento se originó la conexión fluvial entre los Andes y el Atlántico (Figueiredo et al. 2009 en Hoorn & Weseligh, 2010; Bemerguy & Sena Costa, 1991 en Silva, 2009).

Según Silva, (2009) estos procesos de aislamiento geográfico y posterior conexión fluvial (sentido occidente-orientado) pueden verse reflejados en las poblaciones de Arawana blanca, ya que el haplotipo ancestral encontrado para la región ATPasa (6 y 8) en la mayoría de las poblaciones, presentó una frecuencia que disminuyó gradualmente en sentido occidente-orientado, reflejando el posible patrón de expansión poblacional a partir del “stock reproductivo ancestral” de la región amazónica occidental.

No obstante, es importante resaltar que debido a razones tales como el análisis de muestras provenientes de mercados locales (en donde no hay claridad sobre su procedencia) y a la baja capacidad de diferenciación genética-poblacional por parte de los marcadores moleculares empleados, cualquier hipótesis filogeográfica o estrategia de manejo aquí planteadas deben ser tomadas con precaución hasta no obtener resultados más claros en cuanto a la diversidad genética de la Arawana blanca en la amazonia colombiana.

RECOMENDACIONES

Debido a que los marcadores moleculares aquí empleados reflejan relaciones ancestrales, se recomienda la implementación de marcadores moleculares nucleares como son los microsátelites (SSR). Estos marcadores moleculares permitirán revelar relaciones genéticas más actuales, donde las posibles diferencias genéticas e interacciones (flujo génico) entre las poblaciones de esta especie se observarían con mayor claridad, generando así mejores elementos de juicio en la realización de planes de manejo y conservación de esta especie en la amazonia colombiana.

CONCLUSIONES

Se presentó una baja variabilidad genética (Diversidad nucleotídica y haplotípica) para las regiones *COI* y *Cytb* en individuos de *Osteoglossum bicirrhosum* provenientes del mercado en las 4 localidades estudiadas en la Amazonía colombiana.

Los análisis genéticos a partir de los marcadores mitocondriales *COI* y *Cytb* en individuos de Arawana blanca, sugieren que las poblaciones de esta especie para la región amazónica colombiana comparten una misma historia evolutiva, encontrándose una posible diferenciación poblacional a partir un único “stock reproductivo ancestral”.

Las posibles diferencias en el nivel de explotación de la Arawana blanca para las diferentes localidades de la Amazonia colombiana, y la posible estructuración de sus poblaciones que generaría el desarrollo de procesos evolutivos independientes en cada población; son características que hacen necesario establecer estrategias de conservación específicas que se ajusten a los requerimientos ecológicos de cada población.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Amazónico de Investigaciones – SINCHI por la financiación del presente proyecto. Igualmente a todos los pescadores de la región amazónica que colaboraron en la elaboración de este estudio.



Arawana - Cesar Bonilla

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez, R. 2002. *Osteoglossum bicirrhosum*. In Mojica I. Castellanos C, Usma S & R Álvarez. (Eds). Libro rojo de peces dulceacuicolas de Colombia. La serie libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales, Ministerio de Medio Ambiente. p. 168-170.
- Ardura, A.; Pola, I. G.; Ginuino, I.; Gomes, V. & Garcia, E. 2010. Application of barcoding to Amazonian commercial fish labelling. *Food research internacional*. 43:1549–1552.
- Avise, J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall, London, 551 pp.
- Chota, W. 2011. Variabilidad genética de la arahuana *Osteoglossum bicirrhosum* Cuvier, 1829 mediante marcadores microsatélites en la región Loreto. Tesis Maestría Biología Molecular – Universidad de San Marcos, Perú. 60p
- Edwards, S. V., P. Arctander, & A. C. Wilson. 1991. Mitochondrial resolution of a deep branch in the genealogical tree for perching birds. *Proceedings of the Royal Society of London*, 243: 99-107.
- Excoffier, L. & Lischer, H.E.L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10:564-567.
- Farias, I.P., Ortí, G., Sampaio, I., Schneider, H. & Meyer, A. 2001. The cytochrome b gene as a phylogenetic marker: The limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes. *Journal of Molecular Evolution*, 53: 89-103.
- Frankham, R.; Ballou, Jr. & Briscoe, D. A. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge, Cambridge University Press. 617pp.
- Felsenstein, J.F. 1981. Evolutionary tree from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17: 368-376.
- Galetti Jr, P. M., Rodrigues, F. P., Solé-Cava, A., Miyaki, C. Y., Carvalho, D., Eizirik, E., Veasey, E. A., Santos, F. R., Farias, I. P., Vianna, J. A., Oliveira, L.R., Weber, L. I., Almeida-Toledo, L. F., Francisco, M. R., Redondo, R. A. F., Siciliano, S., Del Lama, S. N., Freitas, T. R. O., Hrbek, T. & Molina, W. F. 2008. Genética da conservação brasileira. In: Fundamentos de Genética da Conservação. Sao Paulo: Editora SBG. pp.244-274.
- Hall, T. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95–98.
- Hickerson, M.J.; Carstens, B.C.; Cavender-Bares, J.; Crandall, K.A., Graham, C.H.; Johnson, J.B.; Rissler, L.; Victoriano, P.F. & Yoder, A.D. 2010. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54: 291–301.
- Hoorn, C. & Weselingh, F. 2010. Amazonia landscape and species evolution: a look into the past. Blackwell Publishing Ltd. 447p.
- Irwin, D.M., Kocher, T.D. & Wilson, A.C. 1991. Evolution of cytochrome b gene of mammals. *Journal Molecular Evolution*, 32:128-14.
- Librado, P. & Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. 25:1451-1452.
- Lima, A. C. & Prang, G. 2008. Demandas para o manejo e conservação do aruanã branco, *Osteoglossum bicirrhosum*, (Cuvier, 1829) na região do médio Rio Solimões. *En Biologia, Conservação e Manejo dos Aruanãs na Amazônia Brasileira*. Tefé: Instituto de Desenvolvimento Sustentável de Mamirauá. pp 15-26.
- Lovejoy, N. R.; Willis, S. C. & Albert, J. S. 2010. Molecular signatures of Neogene biogeographical events in the Amazon fish fauna. In Hoorn, C. & Weselingh, F. Amazonia landscape and species evolution: a look into the past. Blackwell Publishing Ltd. Pp 405-420.
- MADR-CCI. 2009. Informe Anual de Pesca y Acuicultura Colombia. 125p.
- Mancera-Rodriguez, N.J. & Álvarez-León, R. (2008). The Trade Of Ornamental Fishes In Colombia. *Acta biológica Colombiana*. 13: 23-52.
- Mohd-Shamsudin, M. I.; Fard, M. Z.; Mather, P. B.; Suleiman, Z.; Hassan, R.; Othman, R. Y. & Bhassu, S. 2011. Molecular characterization of relatedness among colour variants of Asian Arowana (*Scleropages formosus*). *Gene* 490: 47–53.
- Moritz, C. 1999. Conservation units and translocation: strategies for conserving evolutionary processes. *Hereditas* 130: 217–228.
- Palumbi, S. R. 1996. Nucleic Acids II: The Polymerase Chain Reaction. In *Molecular Systematics*. Massachusetts: Sinauer Associates. pp. 205-247.
- Palumbi, S.R. & Benzei, J. 1991. Large mitochondrial DNA differences between morphologically similar Penaid shrimp. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1: 27-34.
- Page, T.J & Hughes, J.M. 2010. Comparing the performance of multiple mitochondrial genes in the analysis of Australian freshwater fishes. *Journal of Fish Biology*, 77: 2093–2122.
- Rabello-Neto, J. G. & Chão, N. L. 2008. Biología Reproductiva do Aruanã Preto *Osteoglossum ferreirai* (Kanazawa 1966), no Município de Barcelos, Médio Rio Negro, AM-Brasil. *In Biologia, Conservação e Manejo dos Aruanãs na Amazônia Brasileira*. pp 133-140.
- Rodríguez, C.M. 2007. La pesca de arawana *Osteoglossum bicirrhosum* en el área de frontera Brasil – Colombia – Perú y evaluación de un sistema de manejo en cautiverio bajo condiciones de la amazonia colombiana. Tesis de Maestría en Estudios Amazónicos. Leticia, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 191p.

- Salinas, Y. & Agudelo, E. 2000. Peces de Importancia Económica en la Cuenca Amazónica Colombiana. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI. Bogotá, Editorial Scripto. 140p.
- Sánchez, C. L., Camargo, T., Valderrama, M. & Beltrán, I. C. 1996. Esfuerzo y captura, aspectos biológicos, caracterización socioeconómica y comercialización de la Arawana (*Osteoglossum bicirrhosum*, Vandelli 1829) en la Amazonia colombiana. Informe Técnico Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura –INPA y Corporación Autónoma Regional del Putumayo –CAP. 37p.
- Sánchez, C.L., Alonso, J.C., Agudelo, E & Rodríguez, C.M. 2010. *Osteoglossumbicirrhosum* (Osteoglossiformes, Osteoglossidae). In I Catalogo de los recursos pesqueros continentales de Colombia. Bogotá D.C.: Serie Editorial Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros Continentales de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). pp 145-147.
- Silva, T.J. 2009. Marcadores moleculares para análise da variabilidade genética de populações do aruanã (*Osteoglossum bicirrhosum*). Tesis de Doctorado em Biotecnologia - Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Manaus. 88p.
- Steinke, D.; Zemplak, T & Hebert, P. 2009. Barcoding Nemo: DNA-Based Identifications for the Ornamental Fish Trade. Plos One, 4(7).
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, & Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. Molecular Biology and Evolution, 28:2731-2739.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. 1994. CLUSTALW: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position – specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids*, 22:4673-680.
- Ward, R.D., T.S. Zemplak, B.H. Innes, P.R. Last & Hebert, P.D.N. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Phil. Trans. R. Soc.*, 8: 1-11.



Arawana - Cesar Bonilla