ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DEL BAGRE RAYADO Pseudoplatystoma fasciatum Linnaeus, 1766 DE DOS LOCALIDADES DE LOS RÍOS MAGDALENA Y AMAZONAS, EN COLOMBIA

Domingo Alirio Montano Arias, 91 Gustavo Forero92 y Paola Sandoval93

RESUMEN

La variación genética es considerada un punto de apoyo para conservar y manejar los recursos naturales a nivel mundial. Su determinación se lleva a cabo por medio de marcadores bioquímicos o moleculares dentro de los cuales las izoencimas y alozimas han sido los primeros y más utilizados para evaluar la estructura, abundancia y distribución de muchas especies ícticas con base en la estimación de índices de variación génica, caracterizando, por ejemplo, los stocks o la potencialidad de las especies para cultivo. En el caso del bagre rayado Pseudoplatystoma fasciatum distribuido en la cuenca del Magdalena y el Amazonas, se observaron ciertas diferencias estructurales a partir del patrón electroforético de 10 locus correspondientes a: ME-1, mMDH-A, \alpha-EST-1, \alpha-EST-2, PGM-A, G6PDH, ADH-1, ODH, AO-1 y FUM. Se reconocieron de manera preliminar algunos alelos privativos y otros de baja frecuencia para Leticia (Amazonas) y Dorada (Magdalena). La mayoría de sistemas analizados fueron el monomórfico en Magdalena, salvo la α-EST-1 y en Amazonas existió una proporción similar entre monomórficos y polimórficos, con 5 locus monomórficos (ODH, AO-1, mMDH-A, ADH-1 y α-EST-1). Sin embargo, estas diferencias no correspondieron a una variabilidad alta ya que muchos genotipos presentaron bajas frecuencias. De manera tal que la relativa heterogeneidad está basada en el aislamiento reproductivo por las condiciones geográficas de las cuencas, en donde la variabilidad debe ser evaluada a nivel intrapoblacional para tener una idea más clara de la dinámica actual de cada cuenca. Posiblemente los individuos sufren procesos dispersivos (mutación, deriva, selección) o sistemáticos (n poblacional, inclusión de individuos o muerte, errores metodológicos) que explicarían la coexistencia de genes deletéreos. Con este estudio se espera pueda ser base para un análisis global de este recurso biológico-pesquero endémico en Colombia para otorgar la relevancia de proyectos de vanguardia que aporten el conocimiento sobre la estructura y variación génica de las diferentes especies que habitan en el territorio patrio, sin olvidar el papel fundamental que juega la relación entre la conservación y la explotación sostenible para la economía y biodiversidad del país.

Palabras clave: variación genética, recursos naturales, variación génica, variabilidad, biodiversidad.

⁹¹ Biologo MSc (C) PhD, Líder grupo Genética y Biología Molecular. Coordinador Nacional SIUNAD.

⁹² Licenciado Biología y Química. MSc, Integrante Grupo Interdisciplinario de Estudios Sectoriales (GIES). Investigador ECAPMA, UNAD.

⁹³ Investigadora ECAPMA, UNAD.

ABSTRACT

Genetic Variation is considered a support point to conserve and to manage the natural resources a world level. It determination is carried out by means of biochemical or molecular markers where the isozymes and alozymes have been the first and more used to evaluate the structure, abundance, and distribution of many ictic species based on estimation of genetic variation, characterizing for example, stocks or the potentiality of the species for cultivation. In the case of the lined catfish *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766) distributed in the Magdalena's basin and the Amazon, certain structural differences were observed starting from the electrophoretic pattern of 10 locus corresponding to: ME-1, mMDH-A, α-EST-1, α-EST-1, PGM, G6PDH, ADH-1, ODH, AO-1 and FUM. It were recognized in a preliminary way some exclusive alleles and/or others of low frequency for Leticia (Amazons) and La Dorada (Magdalena). Most of the analyzed systems were monomorphic in Magdalena, except for the α -EST-1 and in Amazon a similar proportion existed between monomorphic and polimorphic genotypes, with 5 monomorphic locus (ODH, AO-1, mMDH-A, ADH-1 and α -EST-1). However these differences didn't correspond to a high variability, since many genotypes presented low frequencies. In such way the relative heterogeneity (Fst:0.2797) is based on the reproductive isolation by the geographical conditions of the basins, where the variability should be evaluated in a intrapopulations level in order to have a clearer idea of the current dynamics of each basin. The individuals possibly suffer dispersive or systematic processes that would explain the coexistence of deleterious genes. This study is expected to be the base for a global analysis of this endemic biological-fishing resource in Colombia to grand the relevance of updated projects that contribute the knowledge on the structure and genetic variation of different species that habit the native territory, without forgetting the fundamental role that plays the relationship between the conservation and the sustainable exploitation for the economy and biodiversity of the country.

Key words: Genetic Variation, Natural Resources, geographical conditions, the sustainable exploitation, biodiversity

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la variabilidad genética es muy importante para la conservación efectiva y el manejo de las especies susceptibles a alteraciones poblacionales por la reducción o incremento drásticos de sus individuos o por factores medio-ambientales, que dilucidan cambios que pueden ser medidos gracias a los patrones electroforéticos de algunos marcadores bioquímicos (Isoenzimas-Alozimas) (FONDECYT, 1998). A pesar de que sus tasas de cambio son mucho más bajas y solo se observan si existe una modificación en la carga de las proteínas esta técnica ha sido ampliamente usada para caracterizar stocks y poblaciones (Calcagnotto y Toledo-Filhut, 2000).

La conservación y aprovechamiento sostenible, en la actualidad, no solo concierne a algunas especies en vía de extinción o endémicas como unidad fundamental de la biodiversidad, sino a aquellas que son importantes económicamente pues son las que están sometidas a la incidencia de múltiples factores ajenos a su biología natural. Además de los procesos

normales llevados a cabo al interior de las poblaciones, hechos como la sobrepesca, la contaminación, la colonización, la erosión y tantos otros, obligan a los individuos a entrar en un proceso adaptativo que puede llegar a hacer desaparecer las especies por la pérdida de acervo genético (Ramírez-Gil,2001).

El panorama no es más alentador para las especies migradoras, que aunque tienen posibilidades más amplias de reproducirse libremente al poder desplazarse y vivir en varios puntos de una misma cuenca, enriqueciendo el acervo, están sometidas a condiciones ambientales diferentes a lo largo de su hábitat. El bagre rayado, por ejemplo, representa una de las especies más capturadas en el Amazonas en Brasil, Colombia y Perú (Ruffino y Borges-Barthem, 2003) y a pesar de las políticas de tallas media de captura para estos individuos establecidas hacia 1995 por los llamados países amazónicos, en Colombia ya está reportada como una especie vulnerable a la extinción a corto plazo (Mojica *et al.*, 2002).

A continuación se describirá la relativa heterogeneidad de dos grupos correspondientes a Leticia y Dorada cuya fluctuación en las frecuencias alélicas independientes en 10 locus analizados llevan a pensar que existe un proceso de inserción alélica fluctuante en respuesta a alguna clase de efecto ambiental cuya puntualidad valdría la pena verificar por medio de marcadores moleculares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron procesadas un total de 54 muestras de hígado, corazón y músculo esquelético de bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum*, 27 de ellas provenientes de La Dorada (Magdalena) y 17 de Leticia (Amazonas). Los tejidos congelados a -20°C fueron macerados sobre un mortero en hielo y agua destilada fría como buffer de extracción ya que no altera la estructura de las proteínas presentes en cada tejido (FONDECYT, 1998). Cada macerado se separa en dos alícuotas en tubos eppendorf almacenados debidamente rotulados a -20°C hasta el momento de la siembra, esta se realiza embebiendo rectángulos de papel filtro Whatman N. o 3 de 4 mm por 8mm. Como matriz de corrido se utilizó el gel de almidón al 10%, con dos sistemas buffer continuos: Tris Bórico EDTA (TBE) pH. 9.0 y Tris Cítrico (TC) pH 7.0 (Tabla 1).

Tabla 1. Condiciones promedio de sistemas buffer y corrido de los diferentes sistemas analizados para cachama blanca *Piaractus brachypomus* y bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum*

Sistema Buffer	pН	V/mA	T(Horas)
Tris Cítrico (TC)	7.0	120/14	8-12
Tris Bórico EDTA (TBE)	9.0	180/35	6-8

Los protocolos de tinción fueron tomados, y en algunos casos modificados, de Harris y Hopkins (1995), Montaño (1998), Murphy *et al.*, (1996) Lima y Contel, (1990) y FONDECYT (1998). Una vez secos los geles fueron leídos en el transiliminador midiendo la distancia de migración de cada banda de 9 sistemas enzimáticos correspondientes a: ME, MDH, EST,

PGM, G6PDH, ADH, ODH, AO y FUM. Posteriormente se procedió a nombrar locus y alelos (zimogramas), estimando las frecuencias alélicas y genotípicas para cada población.

Los análisis estadísticos fueron realizados en los programas para análisis genético poblacionales TFGPA y GENPOP32 (Raimond y Rousset, 1995. En: FONDECYT, 1998). Las frecuencias alélicas y genotípicas fueron comparadas mediante un test de Ji-cuadrado para establecer si existía o no equilibrio de Hardy-Weinberg.

Se calculó el polimorfismo bajo un criterio del 95% como la relación entre la sumatoria de loci polimorficos observados, sobre el total de loci analizados. Siendo considerados polimorficos cuando el locus tiene más de una variante alélica independiente de su frecuencia. La heterocigosidad se obtuvo del número de individuos observados (Ho) y esperados (He) para cada población sobre el número total de loci analizados, incluyendo polimorficos y monomorficos (Nirchio, 2002). A nivel poblacional se calcularon los estadígrafos F de Wrigth, estimando Fis, Fst y Fit. No se efectuó un cálculo de identidad génica ni migrantes efectivos, ya que solo se llevó a cabo un muestreo por localidad, hecho que limita el análisis de cada cuenca, al igual que el número de muestras analizado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ambas localidades presentaron un número considerable de alelos con bajas frecuencias (Tabla 2), lo que tendió a incrementar la homocigosis para el alelo más frecuente y reducir la frecuencia o presencia de heterocigotos.

Tabla 2. Descripción de los sistemas enzimáticos observados en bagre rayado. A:Amazonas, M: Magdalena

		Comportamiento		Genotipos		Alelos		
Enzima	Locus	Α	М	Α	М	Α	M	Obs.
		Monomorfica	Monomórfica					
ME	ME-1	Monomérica	Monomérica	1	1	1	1	
		Polimórfica	Monomórfica					
MDH	M DH-1	Dimérica	Monomérica	2	1	2	1	Fb
		Polimórfica	Polimórfica					
	EST-1	Monomérica	Dimérica	2	2	2	2	
		Polimórfica	Monomórfica					
EST	EST-2	Trimérica	Monomérica	5	1	6	1	
		Monomórfica	Monomórfica					
PGM	PGM-A	Monomérica	Monomérica	1	1	1	1	
		Monomórfica	Monomórfica					
G6PdH	G6PdH	Dimérica	Monomérica	1	1	2	1	
		Polimórfica	Monomórfica					
ADH	ADH-1	Dimérica	Monomérica	2	1	2	1	Fb
	Polimórfica	Monomórfica						
ODH	ODH	Dimérica	Monomérica	6	1	4	1	
	Polimórfica	Monomórfica						
AO	AO-1	Dimérica	Monomérica	2	1	2	1	Fb
		Monomórfica	Monomórfica					
FUM	FUM	Monomérica	Monomérica	1	1	1	1	

El grupo de Magdalena presenta una leve diferencia (Ĥe:0.2616) con respecto a la del Amazonas (Ĥe:0.2394) porque mostró más alelos con frecuencias superiores a 0.05. Estos alelos pueden incrementar en alguna medida su frecuencia conservándose en este grupo. Por el contrario aquellos cuya frecuencia no podría ser aumentada en alguna medida generación tras generación, tienden a desaparecer (Hoenisberg, 1998). La heterogeneidad genética del 27% es moderada y proporcional a los valores de polimorfismo en Magdalena y Amazonas (80% y 70%, respectivamente) esperados por la característica migratoria de la especie que aumenta la probabilidad de entrecruzamiento (Zimmerman, 1987), con una baja tasa de fijación de alelos nuevos en la población (Montaño y Gallo, 2003), como se observa en la Tabla (Tabla 3).

LOCUS Población ME-1 MDH-1 EST-1 EST-2 PGM G6PdH ADH-1 ODH AO-1 FUM Alelos Alelo 1 0.1111 0.3148 0.1111 1 0000 0.1696 0.0370 0.1111 0.0185 0,8104 Alelo 2 0.8889 1,0000 0,6111 0,8889 0.0741 0.8519 0,0370 0.1296 Alelo 3 0.0741 0,9259 0,0741 0,0741 0,8148 Magdalena n:54 0.0370 Alelo 4 0.0370 0.0370 0.3519 Alelo 5 0,3889 Alelo 6 Alelo 1 0.0294 0.4706 0.5000 0.0588 0,1176 Alelo 2 1.0000 0.9706 0.5294 0.2647 1.0000 0.5000 0.7941 Alelo 3 0.0588 1.0000 Alelo 4 0,0294 Amazonas n:34 Alelo 5 0,2941 0,0294 0,9706 Alelo 6 0.0588 Alelo 7 0.2941 0.0294 0.0588 Alelo 8

Tabla 3. Frecuencias alélicas totales para poblaciones de Magdalena y Amazonas

El coeficiente de endogamia (Fis: 0.2228) da cuenta de un déficit leve de heterocigotos, sin un incremento considerado como una reducción de panmixia. La existencia de diferencias bioquímicas en los alélos de los genes de las isoenzimas constitutivas que aportan datos considerables a la variabilidad genética como G6PDH, mMDH-A y PGM, demuestra que las poblaciones están siendo sometidas a factores de impacto que causan modificaciones estructurales al interior de la población por medio de procesos sistemáticos o dispersivos. El origen de dicha variación debe ser evaluado exhaustivamente ampliando en número de muestras para observar que tipo de factor afecta y de qué manera la población. Estos resultados de diferenciación alélica con la presencia de algunos privativos refleja según Montaño y Forero (2003) o proceso adaptativo a factores ambientales.

El seguimiento de estos datos podrían permitir un manejo integrado de la especie como recurso pesquero sensible a la sobreexplotación y alteraciones medio ambientales. Evaluando la viabilidad de seguir aprovechándolo sin que esto implique un riesgo para su vivir.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALCAGNOTTO, D. Y TOLEDO-FILHUT, A. Loss of genetic variability at the transferrin locus in five hatchery stocks. Sao Paulo Mar. 2000.
- FONDECYT, El río Aconcagua como barrera biogeográfica en la segregación de variantes cromosómicas, genéticas y morfológicas en Liolaemus. Revista Chilena de Historia Natural. 1998. Ver: www.scielo.cl.
- HARRIS, H. y HOPKINSON, D. A. Handbook of enzime electrophoresis in Human Genetics. North Holand Publishing Company, Amsterdam. 1976.
- HOENISBERG, H. Genética de Poblaciones. Editorial Gémenis Ltda. España. 1992.
- LIMA, L. M. K.S. y CONTEL, D.A. Electrophoretic analyses of 12 proteins in Natural populations of Scodoptera frugiperda (Lepidoptera-Noctuidae). Rev. Bras. Gent. Vol 13. 1990. 711-729pp.
- MOJICA, J. I; CASTELLANOS, C., USMA, J. S. y ALVAREZ, R. (Eds.). Libro Rojo de Peces Dulceacuícolas de Colombia. Serie de libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales- Universidad Nacional de Colombia y Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia. 2002.
- MONTAÑO, D. A. Detección de la variabilidad genética en una población natural de Piaractus brachypomus (cachama) de la localidad de Guamal (Meta).Guía de laboratorio de genética. 1998.3 p.
- MONTAÑO, D. y GALLO, H. Variabilidad genética del bagre rayado (P. fasciatum) Variabilidad genética del bagre rayado P. fasciatum (Linnaeus, 1766) en el río Magdalena. Universidad Nacional Abierta y a Distancias. Revista de investigaciones UNAD. 2003.
- MONTAÑO, D. A. y FORERO, G. Estructura genética de cuatro poblaciones de cachama blanca (Piaractus brachypomus) de la Amazonía colombiana. Universidad Nacional Abierta y a Distancias. Revista de investigaciones UNAD. 2003.
- NEI, M. Genetic distance between populations. Am. Nat. 106:283-292. 1972.
- NIRCHIO, M. Genética de Poblaciones. Guía de laboratorio de la asignatura "Genética y Evolución". Escuela de Ciencias del Mar. Universidad de Oriente, Núcleo de Nueva Esparta. 2002.
- RAMIREZ-GIL, H. Diferenciacao genética de populacoes de surubim (Pseudoplatystoma fasciatum) e de caparari (Pseudoplatystoma tigrinum) nas bacias Mgdalena, Orinoco e Amazonas. INPA. Submitted. 2001.

- RUFFINO, M. F. y BORGES-BARTHEM, R. Perspectivas para el manejo de los bagres migradores de la Amazonía. Boletín Científico INPA n.o 4.
- ZIMMERMAN, E.C. Relationship between genetic parameters and fife histoty Characteristis of strean fish. Community and evolutionari Ecology of Américan Stream Fishes. University of Oklahoma Press, Norman y London Copiright, Oklahoma. 1987.