

AVANCES EN EL ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE CINCO POBLACIONES NATURALES DE PAICHE, *Arapaima gigas*, EN LA AMAZONIA PERUANA

Carmen García-Dávila^{1,2}, Diana Castro-Ruiz^{1,2}, Sophie Querouil^{1,3}, Werner Chota-Macuayama^{1,2}, Juan García², Fred Chu-Koo^{1,3}; Fabrice Duponchelle^{1,3}; Jesús Núñez^{1,3}; Jean-François Renno^{1,3}

1 Laboratorio Mixto Internacional – Evolución y Domesticación de la Ictiofauna Amazónica (LMI-EDIA)

2 Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM), Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), Carretera Iquitos Nauta km 4.5, Iquitos, Perú. E-mail: Cdavila19@yahoo.com

3 Institut de Recherche pour le Développement (IRD), UMR-ISEM (Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier), Université Montpellier 2, France

4 Programa de Investigación Para el Uso del Agua y sus Recursos (AQUAREC), Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), Carretera Iquitos Nauta km 4.5, Iquitos, Perú.

INTRODUCCIÓN

El paiche *Arapaima gigas* es uno de los peces de agua dulce más grande de Sudamérica, puede crecer hasta tres metros y pesar más de 200 kg (Nelson 1994). Tradicionalmente, Arapaima forma parte de la dieta de una porción significativa de amazónicos que vive cerca de los ríos de la planicie de inundación. La explotación comercial del paiche comenzó a principios del siglo 18, debido principalmente a la calidad de su carne (36.5% de proteína y carencia de espinas intermusculares), por lo cual en el Brasil es considerado como sustituto para el bacalao (*Gadus morhua*). En el siglo 19 y 20 más de 3.000 toneladas de paiche fueron exportadas por año a partir de la Amazonía brasileña (Veríssimo 1895; Menezes 1951), lo que dio lugar a la muerte de aproximadamente 150 000 ejemplares de paiche por año. Según los registros pesqueros hasta los años 60 el paiche era abundante cerca de las grandes ciudades de la Amazonía continental, pero a partir de los años 70 y los 80, el paiche se convirtió en una especie muy escasa y comercialmente extinta cerca de las ciudades amazónicas (Goulding 1980). Formando parte de las especies vulnerables del CITES II desde 1975.

Este estudio pretende contribuir a la preservación del paiche *Arapaima gigas*, mediante la evaluación de la variabilidad genética en cinco poblaciones naturales de esta especie en la Amazonía peruana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta y conservación de material biológico: Fueron analizadas un total de 75 (15 por cada población) especímenes provenientes: Huapapa y El Estrecho ambos en el río Putumayo, Huicungo en el río Tapiche, lago El Dorado perteneciente a la cuenca del río Yanayacu y lago Rimachi perteneciente al río Pastaza (Figura 1).

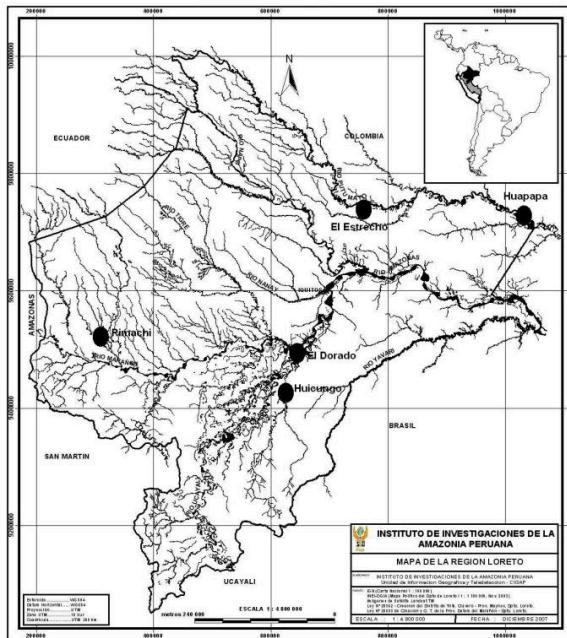


Figura 1. Localidades de colecta de paiche *Arapaima gigas* en la región Loreto (Amazonía peruana).

Análisis genético: La extracción del ADN se realizó de acuerdo al protocolo con CTAB de Doyle & Doyle (1987). La caracterización genética fue realizada mediante el análisis de 13 primers microsatélites diseñados por Farias et al. (2003). La reacción fue realizada en un volumen total de 10 μ l contenido 0.5 μ l de ADN molde (100ng/ μ l) 5 U/ μ l de Taq polimerasa, 10X de Buffer, 25mM de MgCl₂, 10mM de dNTPs, 10 μ M de cebadores y agua ultrapura. Las condiciones de temperatura fueron: un ciclo de denaturación inicial a 95°C x 3min, seguido de 28 ciclos consistente en una denaturación (95°C x 40 seg.), hibridación x 1min con temperatura óptima para cada cebador y extensión (72°C x 1min); seguido de un ciclo de extensión final a 72°C x 30 min. Los segmentos amplificados fueron denaturados y separados mediante electroforesis capilar utilizando un secuenciador (Applied Biosystems) 3130XL. Los pesos de los alelos de cada microsatélite fueron visualizados usando el software Peak Scanner versión 1.0 (<https://products.appliedbiosystems.com>). La estructuración genética de especímenes estudiados fue determinado mediante el Análisis Factorial de Correspondencia (AFC), el índice de fijación (Fst), utilizado en este estudio para calcular el grado de diferenciación entre los grupos; fueron calculados con auxilio del software Genetix versión 4.05.2 (Belkhir et al. 2004). Los alelos privados fueron determinados con auxilio del Software GenAIEx 6.2 (Peakall & Smouse 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron un total de 87 alelos en los 75 especímenes analizados, siendo que el mayor número de alelos fueron encontrados en los loci Agi09 con 15 alelos y Agi07 con 12 alelos respectivamente, en tanto que el loci agi14 presento solo dos alelos. Si

bien fueron encontrados 30 alelos privados entre las cinco poblaciones analizadas, las frecuencias de las mismas fueron muy bajas (Tabla 1). La población con mayor número de alelos privados fue Huicungo (río Tapiche) con ocho alelos, en tanto que El Estrecho y Rimachi presentaron un solo alelo cada uno.

Tabla 1. Alelos privados y sus frecuencias encontrados en las cinco poblaciones de paiche analizadas en la Amazonía peruana.

Población	Locus/Alelo	Frecuencia	Locus/Alelo	Frecuencia
Huapapa	Agi13/ 266	0,025	Agi3/ 274	0,025
	Agi7/ 313	0,050		
Estrecho	Agi11/248	0,024	Agi1/ 298	0,024
Huicungo	Agi5/ 273	0,026	Agi4/264	0,053
	Agi5/ 281	0,053	Agi4/ 274	0,026
	Agi5/ 291	0,026	Agi7/ 304	0,026
	Agi4/ 256	0,026	Agi7/318	0,026
	Agi10/ 233	0,047	Agi1/310	0,023
Dorado	Agi10/ 237	0,070	Agi6/ 276	0,012
	Agi7/328	0,035	Agi2/ 276	0,012
	Agi3/ 282	0,035		
	Agi5/ 293	0,009	Agi13/272	0,009

Análisis factorial de correspondencia: El resultado de AFC (fig. 2) muestra que el paiche presenta una fuerte estructuración genética entre poblaciones de cuencas diferentes, como por ejemplo el lago Rimachi (río Pastaza) con las poblaciones de cuencas distantes como el Putumayo y el Tapiche o el Yanayacu. En tanto que poblaciones de una misma cuenca o cuencas cercanas no presentan estructuración o diferenciación genética, como por ejemplo El Estrecho y Huapapa (río putumayo).

Los valores de Fst (Tabla 2) muestran que la población del lago Rimachi presenta las mayores diferenciaciones con las demás poblaciones (valores de Fst variaron entre 0.14 a 0.20), estos valores según la escala propuesta por Hartl & Clark (1997) indican diferenciación genética moderada a alta entre el Rimachi y las demás poblaciones (distancias genéticas variaron de 0.10 con Huapapa a 0.16 con Huicungo). En tanto que las poblaciones de la cuenca del río Putumayo (El Estrecho y Huapapa) presentan diferenciación genética pequeña entre ellas ($Fst = 0.02$, distancia genética = 0.02).

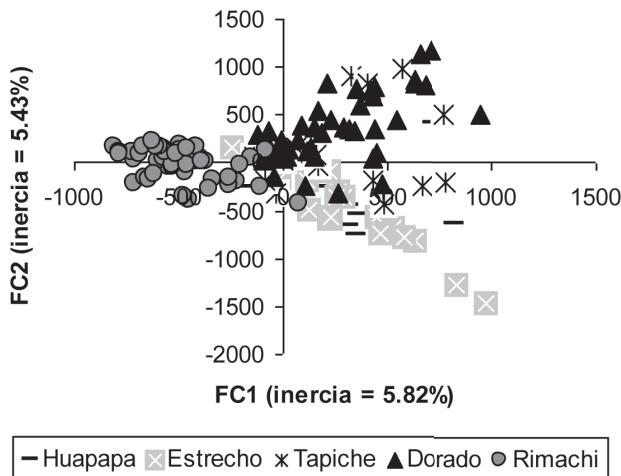


Figura 2.- Proyección gráfica de los resultados del AFC con los ejes 1 y 2 para los individuos de las dos poblaciones en estudio de paiche *Arapaima gigas*.

Tabla 2.- Resultados del índice de fijación (*Fst*) y distancia genética (Nei 1978) obtenido para las cinco de paiche *Arapaima gigas* poblaciones analizadas. Significancia: * $p<0.05$, *** $p<0.001$

	Huapapa	Estrecho	Tapiche	Dorado	Rimachi
Huapapa	-	0.02 (0.02)*	0.09 (0.08)***	0.09 (0.07)***	0.14 (0.10)***
Estrecho		-	0.09 (0.10)***	0.12 (0.10)***	0.18 (0.15)***
Huicungo			-	0.07 (0.06)***	0.20 (0.16)***
Dorado				-	0.15 (0.11)***
Rimachi					-

Estos resultados muestran, que al contrario de lo reportado en la literatura científica (Hrberk et al., 2005), las poblaciones peruanas de *Arapaima gigas* presentan diferenciación genética entre ellas. Pudiendo esto ser explicado por la distancia geográfica entre las poblaciones analizadas y el carácter poco migratorio de esta especie, que puede desplazarse a través de la floresta inundada entre lagos cercanos en época de creciente, manteniendo así una activa migración que permite el flujo de genes entre ellos. En tanto que esto no es posible entre poblaciones de diferentes cuencas, debido en gran parte a las enormes distancias geográficas entre un punto y otro, y a la perdida de poblaciones intermedias (agudizado por acción de una larga presión antropogénica de pesca, que redujo o acabó con las mismas), que servían de enlace entre puntos

distantes, eliminando con esto la posibilidad de un flujo de genes por una migración local paso a paso.

REFERENCIAS

- Doyle, J. J.; Doyle J. L. 1987. *A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue*. *Phytochem. Bull.*, 19:11-15.
- Farias, I.; Hrbek, T.; Brinkmann, H.; Sampaio, I.; Meyer, A. 2003. *Characterization and isolation of DNA microsatellite primers for Arapaima gigas, an economically important but severely over-exploited fish species of the Amazon basin*. *Molecular Ecology Notes*, 3, 128-130.
- Goulding, M. 1980 *Fishes and the Forest*. University of California press, Los Angeles, CA
- Hrbek, T.; Farias, I.; Crossa, M.; Sampaio, I.; Porto, J.; Meyer A. 2005. *Population genetic analysis of Arapaima gigas, one of the largest freshwater fishes of the Amazon basin: implications for its*. *Animal Conservation* 8: 297–308
- Maniatis, T.; Sambrook, J.; Fritsch, E. F. 1989. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*. Second Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press; New York.
- Menezes, R. S. 1951 *Notas biológicas e econômicas sobre o pirarucu Arapaima gigas (Cuvier) (Actinopterygii, Arapaimidae)*. Serviço de Informação Agrícola / Ministerio da Agricultura. Serie estudos técnicos, 3: 9-39.
- Nelson, J. S. 1994 *Fishes of the World*, 3rd edition. John Wiley and Sons, Inc., New York, NY, 624 pp.
- Veríssimo, J. 1895 *A Pesca na Amazônia*. Livraria Clássica, de Alves & C., Rio de Janeiro, Brazil, 130 pp