

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DEL ZÚNGARO *TIGRINUS - Brachyplatystoma tigrinum* (Britski, 1981) Y DOS ESPECIES RELACIONADAS DE LA FAMILIA PIMELODIDAE

Jorge MORI-MARIN¹, Jean-François RENNO^{3,5}, Fernando CARVAJAL-VALLEJOS^{4,5}, Fernando ALCÁNTARA-BOCANEGRA², Fabrice DUPONCHELLE^{3,5}, Carmen GARCIA-DAVILA^{2,5}

- 1 Instituto de Biociências, UNESP Campus de Botucatu, SP, Brasil. E-mail: jorge_momar@hotmail.com
- 2 Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Apartado 784. Laboratorio de Biología y genética Molecular – LBG.M. Iquitos, Perú. E-mail: cdavila19@yahoo.com
- 3 Institut de Recherche pour le Développement (IRD). Montpellier, France.
- 4 Universidad Mayor San Simón. Cochabamba, Bolivia.
- 5 Laboratoire Mixte International – Evolution et Domestication de l'Ichtyofaune Amazonienne (LMI – EDIA)

RESUMEN

En el presente trabajo se generaron los primeros resultados de la variabilidad genética de *Brachyplatystoma tigrinum* (Pimelodidae, Siluriformes) en la Amazonía peruana, comparándola con la variabilidad de otras dos especies de bagres de la familia Pimelodidae (*B. rousseauxii* y *B. vaillantii*). El análisis fue realizado a través del secuenciamiento nucleotídico de la región control del DNA mitocondrial (DNAm_t) de 41 especímenes de *B. tigrinum* y 30 de cada especie a comparar (*B. rousseauxii* y *B. vaillantii*). El porcentaje de bases nucleotídicas en las tres especies fueron similares, siendo los valores de Adenina (A) y Timina (T) mayores que las de Citosina (C) y Guanina (G). El polimorfismo de DNA indicó que *B. tigrinum* presenta baja variabilidad genética (Haplótipos = 8, Hd = 0.527, π = 0.002) en comparación a *B. rousseauxii* y *B. vaillantii* (Haplótipos = 26, Hd = 0.986, π = 0.008; H = 27, Hd = 0.991, π = 0.016, respectivamente). Si consideramos la relación entre los valores de diversidad haplotípica y nucleotídica del DNAm_t propuesto para teleósteos marinos, podemos clasificar a las especies comparativas (*B. rousseauxii* y *B. vaillantii*) como aquellas que poseen poblaciones estables, con grandes tamaños efectivos, elevado flujo de genes y amplia distribución geográfica. Mientras que *B. tigrinum* con sus reducidos valores de diversidad haplotípica y nucleotídica, podría estar reflejando que esta especie ha pasado por un reciente efecto de cuello de botella o un efecto fundador, que estaría causando pérdida de diversidad genética.

PALABRAS CLAVE: *Brachyplatystoma tigrinum*, variabilidad genética, secuenciamiento, región control, Amazonía peruana.

COMPARATIVE STUDY OF THE GENETIC VARIABILITY OF CATFISH *TIGRINUS - Brachyplatystoma tigrinum* (Britski, 1981) AND TWO RELATED SPECIES OF THE PIMELODIDAE FAMILY

ABSTRACT

The present study generated the first results of the genetic variability of *Brachyplatystoma tigrinum* (Pimelodidae, Siluriformes) in the Peruvian Amazon, comparing its variability with two other catfish species from the Pimelodidae family (*B. rousseauxii* and *B. vaillantii*). The analysis was done through nucleotide sequencing of the control region of the mitochondrial DNA of 41 specimens of *B. tigrinum* and 30 of each species to compare (*B. rousseauxii* and *B. vaillantii*). The percentage of nucleotide bases in the three species were similar, the values of adenine (A) and thymine (T) were greater than the values of cytosine (C) and guanine (G). The polymorphism of DNA indicated that *B. tigrinum* has low genetic variation (Haplotypes = 8, Hd = 0.527, π = 0.002) compared to *B. rousseauxii* and *B. vaillantii* (haplotypes = 26, Hd = 0.986, π = 0.008, H = 27, Hd = 0.991, π = 0.016, respectively). If we consider the relationship between the values of the diversity of haplotype and nucleotide of the mtDNA proposed to marine teleost, we can classify the compared species (*B. rousseauxii* y *B. vaillantii*) as those that have stable populations with large effective sizes, high gene flow and wide geographic distribution. While the reduced values of haplotype and nucleotide diversity of *B. tigrinum*, could indicate that this species has undergone a recent bottleneck effect or founder effect, which would cause loss of diversity.

KEYWORDS: *Brachyplatystoma tigrinum*, genetic variability, sequencing, control region, Peruvian Amazon.

INTRODUCCIÓN

Después de los Characiformes, los Siluriformes son el segundo grupo más importante de peces en cuanto al número de especies en el Neotrópico. La familia Pimelodidae forma parte de los Siluriformes y se caracteriza por presentar especies de gran porte con elevado valor comercial en la Amazonía continental. Dentro de esta familia, destacan por la calidad de su carne para el consumo humano, especies como el dorado *Brachyplatystoma rousseauxii*, el saltón *Brachyplatystoma filamentosum*, la manitoa *Brachyplatystoma vaillantii*, la doncella *Pseudoplatystoma punctifer* y el tigre zúngaro *Pseudoplatystoma tigrinum* (Montreuil, 2000; Galvis *et al.*, 2006). En tanto que en el ámbito ornamental, el zúngaro tigrinus *Brachyplatystoma tigrinum* (antes denominado *Merodontotus tigrinus*, Lundberg & Akama, 2005) destaca por su alto valor comercial. El Perú exporta el 30% de peces ornamentales de América del Sur (Prang, 2007) y *B. tigrinum* se encuentra dentro de las 12 especies de peces ornamentales con mayor demanda de exportación, siendo comercializada solo hasta su etapa juvenil (Moreau & Coomes, 2007; Ortiz & Iannacone, 2008). En el año 2001 esta especie generó un ingreso de más de 65000 dólares para el Perú, y en los mercados de Europa y Asia, alcanzó precios entre 300 a 600 euros por espécimen (Ralph, 2006; Moreau & Coomes, 2007).

A pesar de *B. tigrinum* está entre las especies de peces de cuero con prohibición de extraer o exportar en poblaciones naturales (según el Reglamento de Ordenamiento Pesquero del Ministerio de la Producción, 2009), la presión de pesca sigue en aumento sobre esta especie. La problemática en la conservación de esta especie se agudiza debido a que es comercializada a edades tempranas, es decir son extraídos del medio natural antes de la edad de primera madurez sexual, sin lograr contribuir a la perpetuación de su especie. Esto ejerce efectos negativos sobre los tamaños efectivos poblacionales y por ende una fuerte erosión genética (Frankham *et al.*, 2008). Debido a esto, urge la necesidad de generar información de base (p. ej. sobre la variabilidad genética y los rasgos de vida), para formular planes de manejos adecuados para *B. tigrinum*. Bajo estas necesidades, el presente estudio tuvo por objetivo determinar la variabilidad genética de *B. tigrinum* en ejemplares extraídos del medio natural (río Amazonas) y compararla con la de dos especies emparentadas (*Brachyplatystoma rousseauxii* y *Brachyplatystoma vaillantii*) extraídas de la misma área geográfica: La región de Iquitos (Loreto – Perú).

MATERIALES Y MÉTODOS

COLECTA DE MATERIAL BIOLÓGICO Y

EXTRACCIÓN DE DNA

Fueron colectadas muestras de tejido muscular de la región dorso-lateral de *B. tigrinum* (41 ejemplares), *B. vaillantii* y *B. rousseauxii* (30 ejemplares por cada especie). Procedentes del río Amazonas en un área cercana a la ciudad de Iquitos (tramo comprendido entre las coordenadas S 03°55'21.5" - W 73°09'24.6" y S 03°41'51.0" - W 73°09'21.5"). La extracción del DNA, fue realizada mediante el protocolo CTAB de Doyle & Doyle (1987), a partir de 100 mg de tejido muscular.

AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIAMIENTO DE LA REGION CONTROL DNAmT

La región control del DNA mitocondrial fue amplificada utilizando los *primers*: DL20F: 5'-ACC CCT AGC TCC CAA AGC TA-3' (Agnese *et al.*, 2006) y DL20R: 5'-TTA GCA AGG CGT CTT GGG CT-3' (Proporcionado por J. F. Agnese, no publicado). La reacción de amplificación fue realizada en un volumen total de 30 µl, conteniendo 5 U/µl de Taq polimerasa, 2.5 µl de ADN molde, 5X de Buffer, 2 mM dNTPs, 25 mM de MgCl₂, 10 µM de cada primer y agua ultrapura. Las condiciones de temperatura fueron: denaturación inicial a 92 °C durante 3 min; seguida de 30 ciclos (denaturación a 92 °C de 1min, hibridación a 54.1 °C de 1 min, y extensión a 72 °C de 1:30 min); seguida de una extensión final a 72 °C de 3 min. El secuenciamiento nucleotídico de la región control del DNAmT, se realizó con ayuda del Analizador Genético 3130 – Applied Biosystems, mediante el software Sequencing Analysis v5.3.1, utilizando el método enzimático de incorporación de dideoxinucleótidos presente en el Kit comercial ABI PRISM *BigDye Terminators* v3.1 Cycle Sequencing.

ANÁLISIS DE DATOS

La variabilidad genética fue estimada a partir de las secuencias consensos de todas las especies. Las secuencias fueron editadas y alineadas utilizando los programas ClustalW (Thompson *et al.*, 1994) implementado en BioEdit v.7.0.9. (May, 1999). El polimorfismo de DNA fue determinado con el programa DNASP v.5.0.0 (Rozas & Rozas, 1999). Fueron estimados los siguientes parámetros para cada especie: número de haplotipos (H), diversidad haplotípica (Hd), diversidad nucleotídica (π), número de sitios polimórficos (S) (Nei, 1987), número de transiciones (Ts), número de transversiones (Tv), número de inserciones/delecciones (*indels*) y la composición nucleotídica.

El modelo de evolución para la región control del DNAm, fue seleccionado de entre 28 modelos alternativos según los valores del Criterio de Información Akaike (AIC) (Akaike, 1973), basados en el Análisis de Filogenia y Evolución (APE) implementado en el programa R (Paradis *et al.*, 2004; Paradis, 2006). La red de haplotipos se realizó con ayuda del programa R (Paradis *et al.*, 2004; Paradis, 2006) para poder observar la proporción del número de individuos por cada haplotipo, bajo el criterio de máxima parsimonia (Nei, 1996). Para estimar la media de las divergencias genéticas par a par dentro y entre las especies, se utilizó el programa MEGA4.0 (Tamura *et al.*, 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

COMPOSICIÓN NUCLEOTÍDICA

Los porcentajes de bases nucleotídicas en las tres especies en estudio fueron relativamente similares (Figura 1), siendo los valores de Adenina (A) y Timina (T) mayores que las de Citosina (C) y Guanina (G). Aunque *B. tigrinum* presentó mayor porcentaje de Adenina (33.92%), en tanto que *B. vaillantii* y *B. rousseauxii* presentaron mayores valores de Timina (32.44% y 32.74% respectivamente). La composición de bases nucleotídicas encontradas para las tres especies estudiadas, fue similar a las reportada por Batista (2001), Huergo (2009) y Rodríguez (2009) en especies del género *Brachyplatystoma* (*B. rousseauxii*, *B. filamentosum*, *B. vaillantii* respectivamente), como también para otros órdenes de peces como Characiformes, Perciformes y Acipenseriformes (Brown *et al.*, 1993; Faber & Stepien, 1997; Schneider, 2007; Chiang *et al.*, 2008). Esta tendencia concuerda con Meyer (1993), que explica que la región control es altamente variable y es común encontrar zonas con elevada frecuencia de A/T, porque estas son más estables que las zonas con C/G.

POLIMORFISMO DE DNA

B. tigrinum presentó valores menores en los parámetros genéticos ($H = 8$, $\text{Eta} = 10$, $K = 1.632$, $S = 10$, $Hd = 0.527$, $\pi = 0.002$) con respecto a las otras especies de bagres en estudio (Tabla 1). En cambio *B. vaillantii* presentó los mayores valores ($H = 27$, $\text{Eta} = 74$, $K = 14.400$, $S = 73$, $Hd = 0.991$, $\pi = 0.016$). En total fueron encontrados 61 haplotipos entre los 101 individuos analizados de las tres especies, ningún haplotipo fue compartido entre las especies. *B. tigrinum* presentó solo ocho haplotipos (H) en los 41 especímenes analizados, de los cuales el haplotipo 1 fue el que estuvo presente en la mayor cantidad de individuos (28). *B. vaillantii*, presentó el

mayor número de haplotipos (27) y el mayor número de haplotipos únicos (25) de los 30 especímenes analizados (Tabla 1). La red de Haplotipos (Figura 2) muestra con mayor claridad el número de haplotipos y sus proporciones en las diferentes especies.

Los reducidos valores encontrados en los parámetros de polimorfismo de DNA de *B. tigrinum*, en especial en la diversidad haplotípica y nucleotídica (Tabla 1), podría reflejar una reducción poblacional drástica producto de un efecto de cuello de botella o un efecto fundador. Los cuales ponen en peligro al número efectivo de individuos en una población (Frankham *et al.*, 2008; Renno *et al.*, 2006). Estos procesos conllevan a la deriva genética, que en poblaciones pequeñas provoca la pérdida de gran parte de los haplotipos y favorece la dominancia de unos pocos genotipos por la endogamia (Frankham *et al.*, 2008).

DIVERGENCIA INTRA E INTERESPECÍFICA

Los valores de la divergencia genética (estimado con el modelo de evolución TN93 + Γ) fueron calculados dentro y entre las tres especies (Tabla 2). A nivel Intraespecífico los valores promedios de divergencia haplotípica fueron 0.13% en *B. tigrinum*, 0.75% en *B. rousseauxii* y 1.42% en *B. vaillantii*. La divergencia genética interespecífica varió de 12% entre *B. rousseauxii* y *B. vaillantii*, de 17% entre *B. vaillantii* y *B. tigrinum*, hasta 19% entre *B. rousseauxii* y *B. tigrinum*. La reducida variabilidad genética puede poner en peligro la adaptabilidad de una especie frente a los cambios y adversidades del medio ambiente (Bernatchez *et al.*, 1989).

Resultados similares fueron reportados para las poblaciones mediterráneas del pez *Fistularia commersonii* (Syngnathiformes) por Golani *et al.* (2007), quienes observaron una baja variabilidad haplotípica (dos haplotipos) en 52 especímenes. Estos autores sugirieron que *F. commersonii* podría estar atravesando un cuello de botella. Otro caso similar fue observado por Rodrigues *et al.* (2008) en *Cynoscion acoupa*. Los autores obtuvieron 43 haplotipos en 297 individuos, sugiriendo que podría deberse a la reducción del tamaño efectivo de la población. En otras especies del Neotrópico, la baja variabilidad haplotípica relacionada a la disminución del tamaño efectivo de la población ya fue observada en *Pseudoplatystoma corruscans* y *P. reticulatum* (Bignotto *et al.*, 2009), *Acipenser transmontanus* (Brown *et al.*, 1993). También fue observado en peces marinos como: *Scomber scombrus* y *S. japonicus* (Zardoya *et al.*, 2004), *Larimichthys crocea* (Cui *et al.*, 2009), *Cyprinus carpio* (Kohlmann *et al.*, 2003), especies de arrecifes de coral (Fauvelot *et al.*, 2003) y *Morone saxatilis*

(Waldman *et al.*, 1998).

Los valores de variabilidad genética y haplotípica obtenidos en el presente trabajo para las especies comparativas (*B. rousseauxii* y *B. vaillantii*) fueron altas en comparación a *B. tigrinum*. Si consideramos la relación entre los valores de diversidad haplotípica y nucleotídica del DNAm^t propuesto por Grant & Bowen (1998) para teleósteos marinos, podemos clasificar a las especies comparativas, como poblaciones estables con grandes tamaños efectivos, con flujos elevados de genes y amplia distribución geográfica. Esta interpretación es coincidente con observaciones hechas por Higuchi & Kato (2002) al analizar 20 especímenes de *Sebastes thompsoni* (20 haplotipos) y 18 de *S. inermis* (15 haplotipos). De igual manera, Santos *et al.* (2007) reportó una alta variabilidad genética para *Colossoma macropomum* al analizar 48 especímenes (47 haplotipos). Casos similares fueron observados en *Carnegiella strigata* (Schneider,

2007), *Cichla monoculus* (Renno *et al.*, 2006) y peces marinos *Siganus spinus* y *S. guttatus* (Iwamoto *et al.*, 2009), *Lutjanus peru* (Rocha & Sandoval, 2003). Otras posibles explicaciones para la pérdida o reducción drástica de la variabilidad genética en el medio natural, de especies con amplia distribución geográfica como *B. tigrinum*, podría ser la degradación del hábitat. La sobrepesca puede ser un factor que a largo plazo agudiza el monomorfismo de *B. tigrinum*, como lo sugieren para otras especies Coronel *et al.* (2004), Batista & Alves-Gomes (2006) y Gomes-Uchida & Banks (2006).

Los valores de divergencia encontrados entre los 42 especímenes de *B. tigrinum* son contrastantes a las encontradas entre los especímenes de los dos grupos comparativos, esto podría estar relacionado a la erosión genética por efecto antropico (falta de reposición de stock), o por aumento de los niveles de endogamia dentro de *B. tigrinum*.

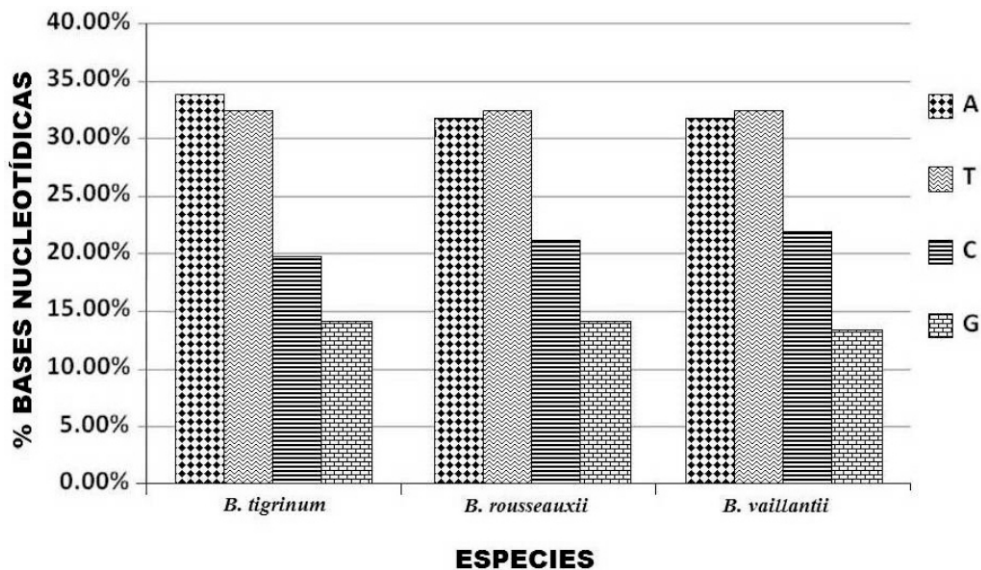


Figura 1. Histograma representativo del porcentaje de bases nucleotídicas: Adenina, Citosina, Guanina y Timina; observada en *B. tigrinum*, *B. vaillantii* y *B. rousseauxii*.

Tabla 1. Parámetros genéticos para la región control del DNA mitocondrial de *B. tigrinum*, *B. vaillantii* y *B. rousseauxii*

Parámetros Genéticos	<i>B. tigrinum</i>	<i>B. vaillantii</i>	<i>B. rousseauxii</i>
N° de secuencias (N)	41	30	30
N° de haplotipos (H)	8	27	26
N° de haplotipos únicos (Hu)	4	25	24
Diversidad haplotípica (Hd)	0.527 ± 0.091	0.991 ± 0.012	0.986 ± 0.014
Diversidad nucleotídica (π)	0.00175 ± 0.00036	0.01646 ± 0.00140	0.00764 ± 0.00058
N° total de sitios	931	875	850
N° de sitios polimórficos (S)	10	73	33
N° total de mutaciones (Eta)	10	74	33
Media de las diferencias nucleotídicas entre pares de individuos (K)	1.632	14.400	6.497
Transiciones (Ts)	7	70	33
Transversiones (Tv)	3	4	0
Indels	0	9	0

Tabla 2. Divergencia genética par a par intra e interespecífica estimado con el modelo de evolución TN93 + Γ . *B. tigrinum*, *B. rousseauxii* y *B. vaillantii*. Los valores en diagonal representan la divergencia genética intraespecífica. Los valores en la región inferior representan la divergencia genética interespecífica.

	<i>B. tigrinum</i>	<i>B. rousseauxii</i>	<i>B. vaillantii</i>
<i>B. tigrinum</i>	0.13%		
<i>B. rousseauxii</i>	19.49%	0.75%	
<i>B. vaillantii</i>	17.49%	12.07%	1.42%

CONCLUSIONES

Los resultados moleculares obtenidos muestran que *B. tigrinum* posee una variabilidad genética menor en comparación con otras especies del mismo género (*B. vaillantii* y *B. rousseauxii*). Este resultado podría ser el reflejo de un reciente efecto de cuello de botella (agudizado quizás por una fuerte presión de pesca) o un efecto fundador, que estaría causando pérdida de variabilidad genética por deriva génica. Ante estos resultados se recomienda limitar su pesca en poblaciones naturales y promover su reproducción en ambiente controlados como una medida para amortiguar la presión de pesca del medio natural y satisfacer la demanda en el mercado de peces ornamentales.

AGRADECIMIENTOS

Al Proyecto Innovación y Competitividad para el Agro Peruano – INCAGRO, por el financiamiento parcial del presente estudio a través del subproyecto “Bases para el desarrollo de la producción sostenible de peces ornamentales: el tigrinus Zúngaro (*Brachyplatystoma tigrinum*, Britski, 1981).

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Agnese, J.F.; Zentz, F.; Legros, O.; Sellos, D. 2006. Phylogenetic relationships and phylogeography of the Killifish species of the subgenus *Chromaphyosemion* (Radda, 1971) in West Africa, inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40: 332–346
- Akaike, H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: Petrov, B. N., Csaki, F. (Eds). Proceedings of the Second International Symposium on Information Theory, Akadémia Kiado. Budapest. pp. 267–281
- Batista, J.S. 2001. *Estimativa da variabilidade genética intraespecífica da dourada – Brachyplatystoma flavicans Castelnau 1855 (Pimelodidae – Siluriformes) no Sistema Estuario – Amazonas – Solimões*. Dissertação de mestrado, INPA – Manaus, Brasil. XVIII + 97pp.
- Batista, J.S.; Alves-Gomes, J.A. 2006. Phylogeography of *Brachyplatystoma rousseauxii* (Siluriformes – Pimelodidae) in the Amazon Basin offers preliminary evidence for the first case of “homing” for an Amazonian migratory catfish. *Genet. Mol. Res.* 5 (4): 723–740.
- Bernatchez, L.; Dodson, J.J.; Boivin, S. 1989. Population bottlenecks: influence on mitochondrial DNA diversity and its effect in coregonine stock discrimination. *J. Fish Biol.* 35: 233–244.
- Bignotto, T.S.; Prioli, A.J.; Prioli, S.M.A.P.; Maniglia, T.C.; Boni, T.A.; Lucio, L.C.; Gomes, V.N.; Prioli, R.A.; Oliveira, A.V.; Júlio-Junior, H.F.; Prioli, L.M. 2009. Genetic divergence between *Pseudoplatystoma corruscans* and *Pseudoplatystoma reticulatum* (Siluriformes: Pimelodidae) in the Paraná River Basin. *Braz. J. Biol.* 69: 681–689.
- Brown, J.R.; Beckenbach, A.T.; Smith, M.J. 1993. Intraspecific DNA sequence variation of the mitochondrial control region of White Sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Mol. Biol. Evol.* 10(2): 326–341.
- Cui, Z.; Liu, Y.; Li, C.P.; You, F.; Chu, K.H. 2009. The complete mitochondrial genome of the large yellow croaker, *Larimichthys crocea* (Perciformes, Sciaenidae): Unusual features of its control region and the phylogenetic position of the Sciaenidae. *Gene* 432: 33–43.
- Chiang, H.; Hsu, C.C.; Wu, G.C.C.; Chang, S. K.; Yang, H.Y. 2008. Population structure of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) in the Indian Ocean inferred from mitochondrial DNA. *Fisheries Research* 90: 305–312.
- Coronel, J.S.; Maes, G.E.; Claus, S.; Van Damme, P. A.; Volckaert, A.M. 2004. Differential population history in the migratory catfishes *Brachyplatystoma flavicans* and *Pseudoplatystoma fasciatum* (Pimelodidae) from the Bolivian Amazon assessed with nuclear and mitochondrial DNA markers. *Journal of Fish Biology* 65: 859–868.
- Doyle, J.J.; Doyle J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.*, 19:11-15.
- Faber, J.E.; Stepien, C.A. 1997. The utility of mitochondrial DNA control region sequence for analyzing phylogenetic relationships among populations, species, and genera of the Percidae. In: Kocher, T.D.; Stepien, C.A. (Eds). *Molecular Systematics of Fishes*, San Diego, CA: Academic Press, pp. 129–143
- Fauvelot, C.; Bernardi, G.; Planes, S. 2003. Reductions in the mitochondrial DNA diversity of coral reef fish provide evidence of population bottlenecks resulting from Holocene sea-level change. *Evolution*, 57(7): pp. 1571-1583
- Frankham, R.; Ballou, J.D.; Briscoe, D.A. 2008. *Fundamentos de Genética da Conservação*. Sociedade Brasileira de Genética. 280pp.
- Galvis, G.; Mojica, J.I.; Duque, S.; Castellanos, C.; Sánchez, P.; Arce, M.; Gutiérrez, A.; Jiménez, L.; Santos M.; Vejarano, S.; Arbeláez, F.; Prieto, E.; Leiva, M. 2006. *Peces del medio Amazonas, Región de Leticia – Conservación Internacional*, Colombia. 546 pp.

- Golani, D.; Azzurro, E.; Corsini-Foka, M.; Falautano, M.; Andaloro, F.; Bernardi, G. 2007. Genetic bottlenecks and successful biological invasions: the case of a recent Lessepsian migrant. *Biol. Lett.* 3: 541–545.
- Gomez-Uchida, D.; Banks, M.A. 2006. Estimation of effective population size for the long-lived darkblotched rockfish *Sebastes crameri*. *J. Hered* 97: 603–606.
- Grant, W.S.; Bowen, B.W. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *The American Genetic Association* 89: 415–426.
- Hall, T.A. (1999) BIOEDIT a user – friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Department of Microbiology North Carolina State University. *Nucl. Acids. Symp – Ser.* 41: 95–98.
- Higuchi, M.; Kato, K. 2002. Sequence variability in the mitochondrial DNA control region of five *Sebastes* species. *Fisheries Science*, 68: 643–650.
- Huergo, G.P.C.M. 2009. *Estimativa da diversidade genética da piraíba (Brachyplatystoma filamentosum, Lichtenstein 1819) e da piraíba negra (Brachyplatystoma capapretum, Lundberg e Akama 2005), na Amazônia Brasileira, inferidas através do DNA mitocondrial: Subsídios para Manejo e Conservação.* Tese (doutorado)–INPA.
- Iwamoto, K.; Takemura, A.; Yoshino, T.; Imai, H. 2009. Molecular ecological study of *Siganus spinus* and *S. guttatus* from Okinawan waters based on mitochondrial DNA region control sequences. *Journal of Oceanography* 65: 103–112.
- Kohlmann, K.; Gross, R.; Murakaeva, A.; Kersten, P. 2003. Genetic variability and structure of common carp (*Cyprinus carpio*) populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mitochondrial DNA markers. *Aquat. Living Resour* 16: 421–431.
- Lundberg, J.; Akama, A. 2005. *Brachyplatystoma capapretum*: a New Species of Goliath Catfish from the Amazon Basin, with a Reclassification of Allied Catfishes (Siluriformes: Pimelodidae). *Copeia*, 2005 (3), pp. 492–516
- Meyer, A. 1993. Evolution of mitochondrial DNA in fishes. Hochachka and Mommsen (eds) *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*. Vol. 2.
- Ministerio de la Producción. 2009. Reglamento de Ordenamiento Pesquero de la Amazonía Peruana–DSN° 115-2009-PRODUCE.
- Montreuil, V. 2000. Situación regional del manejo de las pesquerías de los grandes bagres migratorios amazónicos, Informe técnico. Iquitos – Perú. 14 pp.
- Moreau, M.; Coomes, O. 2007. Aquarium fish exploitation in western Amazonia: conservation issues in Peru. *Environmental Conservation* 34 (1): 12–22 © 2007
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York, NY, USA. 512pp.
- Nei, M. 1996. Phylogenetic analysis in molecular evolutionary genetics. *Annu. Rev. Genet.* 30: 371–403
- Ortiz, N.; Iannacone, J. 2008. Estado Actual de los Peces Ornamentales Amazónicos del Perú que Presentan Mayor Demanda de Exportación. *Biologist (Lima)*. Vol. 6, N°1, ene-jun 2008, 54-67
- Paradis, E.; Claude, J.; Strimmer, K. 2004. APE: Analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* 20: 289–290.
- Paradis, E. 2006. *Analysis of phylogenetics and evolution with R*. Springer, New York.
- Prang, G. 2007. An industry analysis of the freshwater ornamental fishery with particular reference to the supply of Brazilian freshwater ornamentals to the uk market. *UAKARI*, vol. 3 (1): 7–51.
- Ralph, C. 2006. Página Web: http://www.scotcat.com/factsheets/brachyplatystoma_tigrinum.htm (Accesado el 04-03-2010)
- Renno, J-F; Hubert, N.; Torrico, J. P.; Duponchelle, F.; Nuñez, J.; García, C.; Willis, S. C.; Desmarais, E. 2006. Phylogeography of *Cichla* (Cichlidae) in the upper Madera basin (Bolivian Amazon). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41: 503–510.
- Rocha, A.; Sandoval, J.R. 2003. Diversidad mitocondrial y estructura genética en poblaciones alopátricas del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru*. *Ciencias Marinas* 29 (2): 197–209.
- Rodrigues, R.; Schneider, H.; Santos, S.; Vallinoto, M.; Sain-Paul, U.; Sampaio, I. 2008. Low levels of genetic diversity depicted from mitochondrial DNA sequences in a heavily exploited marine fish (*Cynoscion acoupa*, Sciaenidae) from the Northern coast of Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 31(2): 487–492.
- Rodriguez, F. C. 2009. *Estimativa da variabilidade da piramutaba (Brachyplatystoma vaillantii) por meio de marcadores moleculares microsatélites e D-loop de quatro localidades da Amazônia diferenças entre calha e*

- tributários*. Dissertação (mestrado) – INPA/UFAM.
- Rozas, J.; Rozas, R. 1999. DNASP versión 5.00: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics* 15, p. 174–175.
- Santos, M.C.F.; Ruffino, M.L.; Farias, I.P. 2007. High levels of genetic variability and panmixia of the tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) in the main channel of the Amazon River. *Journal of Fish Biology* 71: 33–44.
- Schneider, C.H. 2007. *Análise da variabilidade genética do peixe ornamental Carnegiella strigata (Characiformes, Gasteropelecidae) de três rios de água preta da Amazônia Central*. Dissertação (mestrado) – INPA/UFAM.
- Tamura, K.; Dudley, J.; Nei, M.; Kumar, S. 2007. MEGA versión 4.0: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA). *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596–1599
- Thompson, J.D.; Higgins, D.G.; Gibson, T.J. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673–4680.
- Torrice, J.P.; Hubert, N.; Desmarais, E.; Duponchelle, F.; Nuñez-Rodríguez, J.; Montoya-Burgos, J.; García-Dávila, C.R.; Carvajal-Vallejos, F.M.; Grajales, A.A.; Bonhomme, F.; Renno, J.F. 2009. Molecular phylogeny of the genus *Pseudoplatystoma* (Bleeker, 1862): Biogeographic and evolutionary implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 51: 588–594.
- Waldman, J. R. 1998. Multiple population bottlenecks and DNA diversity in populations of wild striped bass, *Morone saxatilis*. *Fishery Bulletin* 96: 614–620.
- Zardoya, R.; Castilho, R.; Grande, C.; Favre-Krey, L.; Caetano, S.; Marcato, S.; Krey, G.; Patarnellos, T. 2004. Differential population structuring of two closely related fish species, the mackerel (*Scomber scombrus*) and the chub mackerel (*Scomber japonicus*), in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology* 13: 1785–1798.

