

Parentesco evolutivo en las merluzas del Pacífico sur *Merluccius gayi*, *Merluccius australis* y *Merluccius hubbsi* (Pisces: Merlucciidae)

Evolutionary relationships in Southern Pacific hakes *Merluccius gayi*, *Merluccius australis* and *Merluccius hubbsi* (Pisces: Merlucciidae)

RICARDO GALLEGUILLOS¹, LILIAN TRONCOSO² y CIRO OYARZÚN³

Sección Pesquerías, Depto. Oceanografía, Universidad de Concepción, Casilla 160-C,
Concepción, Chile
E-mail: ¹rgalleg@udec.cl, ²ltronco@udec.cl, ³coyartzun@udec.cl

RESUMEN

Se realizó un estudio genético para determinar el grado de parentesco evolutivo de las merluzas que se encuentran en el Pacífico sur. Se analizaron mediante electroforesis de proteínas 43 loci enzimáticos para las especies, *Merluccius gayi*, *M. australis*, *M. hubbsi* y *Macruronus magellanicus*. El análisis no mostró diferencias genéticas entre los ejemplares de *M. australis* provenientes de Nueva Zelandia con aquellos del sur de Chile. Los valores de Identidad genética muestran un primer nodo entre *M. australis* y *M. hubbsi*, al que posteriormente se une *M. gayi*. El análisis filogenético entrega un cladograma coincidente con lo obtenido al utilizar los valores de distancia e identidad. La expresión de los loci *PGD*, *XOD*, *TO* se consideraron autapomorfías para cada especie, el género *Merluccius* presenta 20 sinapomorfías y las cuatro especies de merluzas analizadas comparten 9 caracteres plesiomórficos (*MDH*, *G6PDH-2*, *GAPDH-1*, *NP-1*, *CK-1*, *EST-1*, *GLIO*, *PEP-2*, *FUM*). Los resultados apoyan la hipótesis de un origen ancestral Atlántico para las especies *M. australis* y *M. hubbsi*.

Palabras clave: aloenzimas, Gadiformes, filogenia, *Merluccius*, sistemática.

ABSTRACT

A genetic research was made to determinate the evolutionary relationships in the hakes that inhabit the South Pacific. Forty three enzymatic loci were screened through protein electrophoresis in the species *M. gayi*, *M. australis*, *M. hubbsi* and *Macruronus magellanicus*. The genetic analysis did not show differences between fishes of *M. australis* from New Zealand with those from Southern Chile. The values of genetic identity show a first node grouping *M. australis* and *M. hubbsi* in close affinity to *M. gayi*. The phylogenetic analysis agree with the tree obtained using genetic Distance and Identity. The expression of the loci *PGD*, *XOD* and *TO* are considered autapomorphies for each species. We recognized 20 sinapomorphies for the genus *Merluccius*. All the four hakes share nine plesiomorphic characters (*MDH*, *G6PDH-2*, *GAPDH-1*, *NP-1*, *CK-1*, *EST-1*, *GLIO*, *PEP-2*, *FUM*). The result supports the hypothesis of an Atlantic origin for *M. australis* and *M. hubbsi*.

Key words: allozymes, Gadiformes, phylogeny, *Merluccius*, systematics.

INTRODUCCION

Los peces Gadiformes constituyen un grupo filogenéticamente complejo de teleosteos, que presentan un mosaico de caracteres primitivos y derivados (Cohen 1984). Dentro de este Orden, las familias Moridae, Gadidae y Macrouridae, conforman un grupo bien definido. Los géneros de la familia Merlucciidae, en cambio, presentan relaciones complejas y poco claras (Inada 1989). Algunos autores (Cohen 1984, Okamura 1989) han llegado a incluir a miembros de la familia Macruronidae dentro de Merlucciidae (Howes 1991).

El origen geográfico y las posibles rutas de dispersión de las 12 especies del género *Merluccius* (Inada 1990) han sido analizadas desde dos perspectivas; una basada en datos osteológicos (Inada 1981, 1989) y la otra basada en información parasitológica (Szidat 1955, Kabata & Ho 1981, Fernández 1985, Esch & Fernández 1993). En un análisis combinado, Ho (1990), propone como hipótesis general, que las especies de *Merluccius* del Océano Pacífico Sur, se habrían originado a partir de un grupo ancestral del Atlántico Occidental que siguió diferentes rutas de especiación durante el Oligoceno. La distribución actual de las

especies y subespecies reconocidas de *Merluccius* en el Pacífico Sur corresponden a *M. gayi gayi* (Guichenot, 1848) (centro-sur de Chile), *M. gayi peruanus* en el norte del Perú, *M. australis* (Hutton 1872) en el sur de Argentina, sur de Chile y Nueva Zelandia y finalmente *M. hubbsi* Marini 1933 (sur Atlántico Argentino y Pacífico sur de Chile).

De acuerdo a Ho (1990), el grupo que originó a *M. gayi* y *M. angustimanus* habitaba en el Atlántico Occidental tropical, desplazándose luego hacia el Pacífico durante el Oligoceno o comienzos del Mioceno. Una vez restablecido el Istmo de Panamá hace 3,5 millones de años, dicho grupo ancestral dio origen a *M. angustimanus* Garman 1899 en la costa Pacífica de Panamá, y a *M. gayi* en la costa Pacífica de Sudamérica, aunque el evento vicariante que produjo tal separación permanece desconocido.

Stepien & Rosenblatt (1996) utilizan aloenzimas para comparar genéticamente a *M. gayi*, *M. productus* (Ayres 1855) y *M. hubbsi*. Sus resultados coinciden con la hipótesis de Ho (1990) ya que sus resultados sugieren que *M. gayi* es más parecida a *M. productus* por su relación Pacífica, que con *M. hubbsi*. Por su parte *M. gayi* estaría sobrellevando su propio proceso de diferenciación genética que se manifestaría con dos subespecies *M. g. peruanus* y *M. g. gayi* (Hernández 1997, comunicación personal).

Las merluzas del extremo sur se habrían originado a partir de un "stock" que se encontraba en la costa central Atlántica de América entre 25 y 35 millones de años atrás, desplazándose hacia el sur por la costa Atlántica americana. Posteriormente este grupo se diferenciaría en *M. hubbsi* y *M. australis*. Respecto de esta última, actualmente existen dos poblaciones disjuntas, una que habita las costas de Nueva Zelandia y otra que habita en ambas costas del extremo sur de Sudamérica (Inada 1990). Dicha ruta, difiere de lo postulado por Inada (1981), respecto del origen de *M. australis* y *M. hubbsi*, en que sugiere que estas especies se habrían originado durante el Plioceno a partir de un "stock" ancestral del Pacífico sur, que rodeando el Cabo de

Hornos alcanzó la costa Atlántica de Sudamérica.

Según Ho (1990) y Esch & Fernández (1993), las hipótesis acerca del origen de las especies de *Merluccius* en el Pacífico, construidas sobre la base de análisis parasitológicos y osteológicos, deben ser contrastadas mediante metodologías que consideren caracteres genéticos de valor evolutivo.

Una de las técnicas más utilizadas para estudios evolutivos ha sido la electroforesis de proteínas, la cual genera información en términos de frecuencias génicas que permiten estimar distancias genéticas entre taxa (Nei 1972). Esta información es empleada en la construcción de fenogramas que reflejan similitud genética entre las especies (Kellog & Birchler 1993). Desde una perspectiva macroevolutiva, el análisis cladístico, se basa en la existencia de grupos monofiléticos cuyos caracteres han derivado recientemente de un ancestro común (Wiley et al. 1991). Para la comparación y polarización de los caracteres es necesario incluir en el análisis un "grupo externo". Dado lo anterior, en este trabajo se plantea analizar mediante aloenzimas, la diferenciación evolutiva de las especies del género *Merluccius* del Pacífico Sur y establecer sus relaciones de parentesco, usando como "grupo externo" a *Macruronus magellanicus*, ya que esta especie en alguna oportunidad ha sido considerada miembro de la familia Merlucciidae (Cohen 1984).

MATERIALES Y METODOS

Se obtuvieron 60 ejemplares de *Merluccius gayi* (Talcahuano, Chile, 36°38'S; 73°30'W), 23 de *M. australis* (Puerto Chacabuco, Chile), 10 de *M. australis* (Nueva Zelandia), 40 de *M. hubbsi* (Atlántico frente a Montevideo), 11 de *Macruronus magellanicus* (Talcahuano, Chile), los que fueron congelados a -20°C, hasta su análisis. Una muestra de músculo e hígado de cada ejemplar fue macerada y centrifugada a 3.000 rpm por 5 min. El homogeneizado se absorbió mediante un papel filtro, que se insertó en una matriz de almidón (12%), la

que finalmente fue sometida a electroforesis horizontal de proteínas.

Los tampones de corrida utilizados fueron los siguientes: a). Tris-citrato pH 6,9; b). Tris-citrato pH 7,0 (Siciliano & Shaw 1976); c). Hidróxido de litio pH 8,0 (Ridgway et al. 1970); d) Borato-Tris-citrato discontinuo pH 8,2-8,7 (Selander et al. 1971); e) Tris-citrato discontinuo pH 5,1-6,0. Los geles fueron teñidos para enzimas específicas y se utilizaron como referencias los procedimientos de Harris & Hopkinson (1976) y Shaw & Prasad (1970) con modificaciones. Los nombres de los sistemas enzimáticos, el número de loci,

código internacional y el sistema tampón utilizado se entregan en la Tabla 1.

La nomenclatura de los diferentes loci y sus alelos siguió a Shaklee et al. (1990), la movilidad electroforética de *M. magellanicus* fue designada A, y la movilidad relativa de las otras merluzas fue designada alfabéticamente. Se utilizó el programa computacional BIOSYS (Swofford & Selander 1989) para estimar los valores de Identidad genética (I), Distancia genética (D) y realizar un análisis de conglomerado (UPGMA).

Para estimar el tiempo de divergencia entre las especies se utilizó la hipótesis del

TABLA 1

Sistemas enzimáticos, número de loci, tejidos, buffer usados para caracterizar las merluzas *Merluccius gayi*, *M. australis*, *M. hubbsi* y *Macruronus magellanicus*

Enzymatic systems, number of loci, tissue and buffers used to characterize the hakes *Merluccius gayi*, *M. australis*, *M. hubbsi* and *Macruronus magellanicus*

ENZIMA		E.C. Nº	LOCI	BUFFER	TEJIDO
Alcohol deshidrogenasa	<i>ADH</i>	1.1.1.1	2	A	M
Glicerol 3 fosfato deshidrogenasa	<i>G3PDH</i>	1.1.1.8	2	A-B	M
Sorbitol deshidrogenasa	<i>SORD</i>	1.1.1.14	1	C	H
Lactato deshidrogenasa	<i>LDH</i>	1.1.1.27	2	A	M
Malato deshidrogenasa	<i>MDH</i>	1.1.1.37	1	A	M
Enzima Málica	<i>MDHP</i>	1.1.1.40	1	C	M
Isocitrato deshidrogenasa	<i>IDH</i>	1.1.1.42	1	A	M
Fosfogluconato deshidrogenasa	<i>PGD</i>	1.1.1.44	1	A	M
Glucosa deshidrogenasa	<i>GDH</i>	1.1.1.47	2	B	M
Glucosa 6 P deshidrogenasa	<i>G6PDH</i>	1.1.1.49	2	D	H
Octanol deshidrogenasa	<i>ODH</i>	1.1.1.73	2	A	M
Gliceraldehido P. deshidrogenasa	<i>GAPDH</i>	1.2.1.12	2	B	M
Xantina oxidasa	<i>XOD</i>	1.2.3.2	1	C	H
Succinato deshidrogenasa	<i>SUDH</i>	1.3.99.1	1	B	M
L Glutamato deshidrogenasa	<i>GLUD</i>	1.4.1.3	1	A	M
Tetrazolium oxidasa	<i>TO</i>	1.15.1.1	1	C	M
Purina nucleosido fosforilasa	<i>NP</i>	2.4.2.1	2	C	M
Aspartato amino transferasa	<i>AAT</i>	2.6.1.1	1	E	M
Creatina quinasa	<i>CK</i>	2.7.3.2	2	B	M
Fosfoglucomutasa	<i>PGM</i>	2.7.5.1	1	A-B	M
Esterasa (naftil acetato)	<i>EST</i>	3.1.1.1	3	C	M
Glioxalasa	<i>GLIO</i>	3.1.2.6	1	D	M
Leucina amino peptidasa	<i>LAP</i>	3.4.11.1	1	E	M
Peptidasa A	<i>PEP-A</i>	3.4.11.13	2	C	M
Aldolasa	<i>ALD</i>	4.1.2.13	1	A-B	M
Anhidrasa Carbonica	<i>CA</i>	4.2.1.1	2	C	M
Fumarasa	<i>FUM</i>	4.2.1.2	1	C	M
Aconitasa	<i>ACO</i>	4.2.1.3	1	A	M
Fosfoglucoisomerasa	<i>PGI</i>	5.3.1.9	2	A-B	M

(A): Tris citrato pH 6,9; (B): Tris citrato pH 7,0; (C) Litio pH 8,0; (D) Poulik discontinuo pH 8,2; (E) Tris discontinuo pH 5,1-6,0; (M): Músculo; (H): Hígado

TABLA 2

Frecuencias alélicas para todos los loci enzimáticos de las diferentes merluzas

Allelic frequencies for the all enzymatic loci of the different hakes

LOCUS	ALELOS	<i>M. gayi</i> n=60	<i>M. australis</i> n=30	<i>M. hubbsi</i> n=40	<i>M. magellanicus</i> n=10
<i>ADH-1</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>ADH-2</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>G3PDH-1</i>	a	-	-	0,875	1,0
	b	-	-	0,100	-
	c	1,0	1,0	-	-
	d	-	-	0,025	-
<i>G3PDH-2</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>SORD</i>	a	-	1,0	1,0	1,0
	b	1,0	-	-	-
<i>LDH-1</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>LDH-2</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>MDH</i>	a	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>MDHP</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>IDH</i>	a	-	-	-	1,0
	b	0,250	0,087	-	-
	c	0,750	0,913	1,0	-
<i>PGD</i>	a	-	-	-	1,0
	b	-	-	1,0	-
	c	1,0	-	-	-
	d	-	1,0	-	-
<i>GDH-1</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>GDH-2</i>	a	-	-	-	1,0
	b	-	1,0	1,0	-
	c	1,0	-	-	-
<i>G6PDH-1</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	-	1,0	-
<i>G6PDH-2</i>	c	-	1,0	-	-
	a	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>ODH-1</i>	a	-	-	-	1,0
	b	-	-	1,0	-
	c	1,0	1,0	-	-
<i>ODH-2</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>GAPDH-1</i>	a	1,0	1,0	1,0	1,0
	<i>GAPDH-2</i>	a	1,0	-	1,0
<i>XOD</i>	b	-	1,0	-	-
	c	-	-	1,0	-
	a	-	-	-	1,0
	d	1,0	-	-	-
<i>SUDH</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>GLUD</i>	a	-	-	-	1,0
	b	-	-	1,0	-
	c	1,0	1,0	-	-

(Cont. Tabla 2)

<i>TO</i>	a	-	-	-	1,0
	b	-	1,0	-	-
	c	1,0	-	-	-
	d	-	-	1,0	-
<i>NP-1</i>	a	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>NP-2</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>AAT</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>CK-1</i>	a	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>CK-2</i>	a	-	-	-	1,0
	b	-	1,0	1,0	-
	c	1,0	-	-	-
<i>PGM</i>	a	-	-	-	1,0
	b	0,083	0,087	0,037	-
	c	0,900	0,870	0,963	-
	d	0,017	0,043	-	-
<i>EST-1</i>	a	1,0	1,0	0,925	1,0
	b	-	-	0,075	-
<i>EST-2</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	0,838	-
	c	-	-	0,162	-
<i>EST-3</i>	a	-	-	-	1,0
	b	-	0,391	-	-
	c	1,0	0,587	1,0	-
	d	-	0,022	-	-
<i>GLIO</i>	a	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>LAP</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>PEP-1</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>PEP-2</i>	a	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>ALD</i>	a	-	1,0	-	1,0
	b	1,0	-	-	-
	c	-	-	1,0	-
<i>CA-1</i>	a	-	-	-	1,0
	b	-	1,0	1,0	-
	c	1,0	-	-	-
<i>CA-2</i>	a	-	-	-	1,0
	b	1,0	1,0	1,0	-
<i>FUM</i>	a	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>ACO</i>	a	-	-	1,0	1,0
	b	-	1,0	-	-
	c	1,0	-	-	-
<i>PGI-1</i>	a	-	-	-	1,0
	b	0,208	0,130	-	-
	c	0,792	0,870	1,0	-
<i>PGI-2</i>	a	-	-	-	1,0
	b	-	0,087	-	-
	c	1,0	0,913	1,0	-

reloj molecular. La calibración frecuentemente usada para este reloj es una unidad de distancia (D) corresponde aproximadamente a 19 millones de años (Carlson et al. 1978, Vawter et al. 1980).

Para el análisis cladístico se consideró a la especie *Macruronus magellanicus* como grupo externo. Se consideraron para la polarización de caracteres, el total de alelos

obtenidos en cada locus. Luego los datos fueron analizados usando los programas MacClade 3.0 (Maddison & Maddison 1992) y PAUP 3.0 (Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Swofford 1989) y se incluyeron sólo aquellos loci informativos, es decir que no se consideraron en el análisis aquellos loci que resultaron monomórficos e idénticos en las 4 especies. Se utili-

zó cada locus como carácter y la combinación de alelos como estados del carácter. En los casos de caracteres con varios estados, estos se consideraron no ordenados. Para la búsqueda del árbol más parsimonioso se utilizó la rutina "branch and bound", disponible en el programa PAUP.

RESULTADOS

Para las cuatro especies de merluzas se resolvieron 29 sistemas enzimáticos que dieron cuenta de un total de 43 loci (Tabla 1). La designación numérica de los alelos fue realizada primeramente para *Macruronus magellanicus*. Los alelos de *Merluccius gayi*, *M. australis* y *M. hubbsi* fueron designados en relación a *Macruronus magellanicus*.

En la comparación genética para las diferentes especies, se consideró en el caso de *M. australis* la muestra proveniente de Puerto Chacabuco, ya que al comparar con los ejemplares de Nueva Zelandia la identidad genética es prácticamente igual a uno.

Las frecuencias alélicas para todos los loci se entregan en la Tabla 2. El porcentaje de loci polimórficos considerando el criterio de que el alelo más común no sea superior a 0,99, muestra a *M. gayi* con un 7%, a *M. australis* con 11,6% y a *M. hubbsi* con 9,3%. Se entregan las heterocigosidades calculadas sólo en aquellas especies en que el tamaño de muestra es representativo.

TABLA 3

Matriz de Identidad genética y valores de Distancia. (Nei 1978) (Bajo la diagonal Distancia de Nei; sobre la diagonal Identidad Genética de Nei)

Matrix of genetic Identity and values of Distance (Nei 1978) (Below diagonal Nei's Genetic Distance, Above diagonal Nei's Genetic Identity)

ESPECIES	1	2	3	4
<i>M. gayi</i>	***	0,733	0,691	0,235
<i>M. australis</i>	0,311	***	0,759	0,260
<i>M. hubbsi</i>	0,369	0,275	***	0,277
<i>M. magellanicus</i>	1,448	1,348	1,285	***

Las heterocigosidades calculadas por locus y por individuo corresponden a $0,021 \pm 0,012$ para *M. gayi*, $0,030 \pm 0,015$ para *M. australis* y $0,017 \pm 0,009$ para *M. hubbsi*.

En la Fig. 1 y Tabla 3 se observa que el valor más alto de identidad de 0,759, relaciona a *M. australis* con *M. hubbsi*. Mientras que *M. gayi* se relaciona a este último "cluster" con un valor de identidad de 0,712.

Basados en la hipótesis del reloj molecular, el ancestro de *Merluccius* se habría separado del ancestro de *Macruronus* hace aproximadamente 28 millones de años. El grupo de donde se originan *M. australis* y *M. hubbsi* se habría separado de *M. gayi*

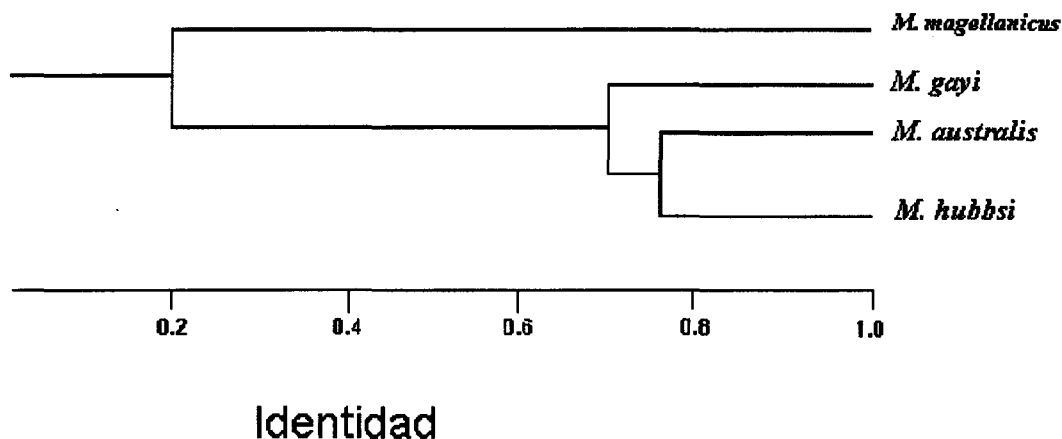


Fig. 1: Fenograma obtenido a partir de los valores de Identidad Genética para las Merluzas del Pacífico Sur Oriental.

Phenogram made with the values of Genetic Identity for Southeastern Pacific Hakes.

hace aproximadamente 6,5 millones de años.

Con la información genética encontrada, se realizó la polarización de los estados de los caracteres (Tabla 4), los que fueron usados para el análisis cladístico, el cladograma más parsimonioso obtenido (Índice de Consistencia = 0,98, con 49 pasos) se muestra en la Fig. 2, en el cual *M. gayi* aparece como taxón hermano del clado *M. australis* - *M. hubbsi*.

De los loci analizados, 9 presentaron idéntica movilidad electroforética en todas las especies, considerándose caracteres plesiomórficos, *MDH*, *G6PDH-2*, *GAPDH-2*, *NP-1*, *CK-1*, *EST-1*, *GLIO*, *PEP-2* y *FUM*.

Aquellos loci que son compartidos por las tres especies de *Merluccius*, *ADH-1*, *ADH-2*, *G3PDH-2*, *LDH-1*, *LDH-2*, *MDPH*, *IDH*, *GDH-1*, *ODH-2*, *SUDH*, *NP-2*, *AAT*, *PGM*, *EST-2*, *EST-3*, *LAP*, *PEP-1*, *CA-2*, *PGI-1* y *PGI-2* se consideraron sinapomorfias del género.

El clado formado por *M. australis* y *M. hubbsi* estaría soportado por las apomorfias en los loci *GDH-2*, *CK-2* y *CA-1* (caracteres 12, 23 y 30 en la Tabla 4).

Se consideraron como caracteres apomórficos para *M. gayi* la expresión de los loci: *SORD*; *PGD*; *GDH-2*, *XOD*, *TO*, *CK-2*, *ALD*, *CA-1* y *ACO*. Para *M. australis* los

loci *PGD*, *G&PDH-1*, *ODH-1*, *GAPDH-2*, *XOD*, *TO* y *ACO*. En el caso de *M. hubbsi* los loci *PGD*, *ODH-1*, *GAPDH-2*, *XOD*, *TO*, *GLU* y *ALD*.

DISCUSION

La diferenciación genética realizada muestra 3 caracteres de tipo diagnóstico para el género *Merluccius*, los loci *XOD*, *PGD* y *TO* que presentaron movilidades electroforéticas distintas para cada especie.

Al comparar los loci analizados con lo obtenido por Stepien & Rosenblatt (1996), se puede observar que algunos de ellos no son coincidentes en la categoría de loci polimórficos, debido probablemente a diferencias en el tamaño de la muestra, en la elección de los tejidos y en las soluciones tampones utilizados.

En el presente trabajo los valores de heterocigocidad son similares para las tres especies de *Merluccius*, siendo inferiores a los encontrados en *M. capensis* (Grant et al. 1988), *M. productus*, *M. gayi* (Stepien & Rosenblatt 1996) y *M. hubbsi* (Roldan 1991).

Con relación a los valores de identidad obtenidos para las merluzas, éstos se encuentran dentro del rango considerado para

TABLA 4

Matriz con los caracteres considerados en el análisis cladístico de las merluzas

Matrix with the character considered in the cladistic analysis for the hakes

Carácter	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<i>M. magellanicus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. gayi</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	0	3
<i>M. australis</i>	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1
<i>M. hubbsi</i>	1	1	0	1	0	1	1	1	1	3	1	1	1	2	1	2	2

Carácter	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
<i>M. magellanicus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. gayi</i>	1	1	3	1	1	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1
<i>M. australis</i>	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	2	1	1
<i>M. hubbsi</i>	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	0	1	1

1. ADH-1	7. LDH-2	13. G6PDH-1	19. GLUD	25. EST-2	31. CA-2
2. ADH-2	8. MDHP	14. ODH-1	20. TO	26. EST-3	32. ACO
3. G3PDH-1	9. IDH	15. ODH-2	21. NP-2	27. LAP	33. PGI-1
4. G3PDH-2	10. PGD	16. GADH-2	22. AAT	28. PEP-1	34. PGI-2
5. SORD	11. GDH-1	17. XOD	23. CK-2	29. ALD	
6. LDH-1	12. GDH-2	18. SUDH	24. PGM	30. CA-1	

subespecies en peces. Esto estaría indicando que las especies analizadas del género *Merluccius* no han acumulado grandes variaciones, lo que se podría considerar en una etapa de especiación incipiente. Sin embargo, muestran caracteres propios, lo que las valida como especies.

El análisis fenético muestra una mayor similitud entre *M. australis* y *M. hubbsi* con un valor de identidad genética de 0,759,

coincidiendo con la hipótesis de Ho (1990) donde construye un cladograma basado en información osteológica y merística. De igual modo, el análisis cladístico coincide con la topología mostrada por el análisis fenético. Sin embargo, también se encontró un cladograma en que se relacionan *M. australis* con *M. gayi* con índice de consistencia similar. En esa situación, deberían ser considerados como sinapomorfías para

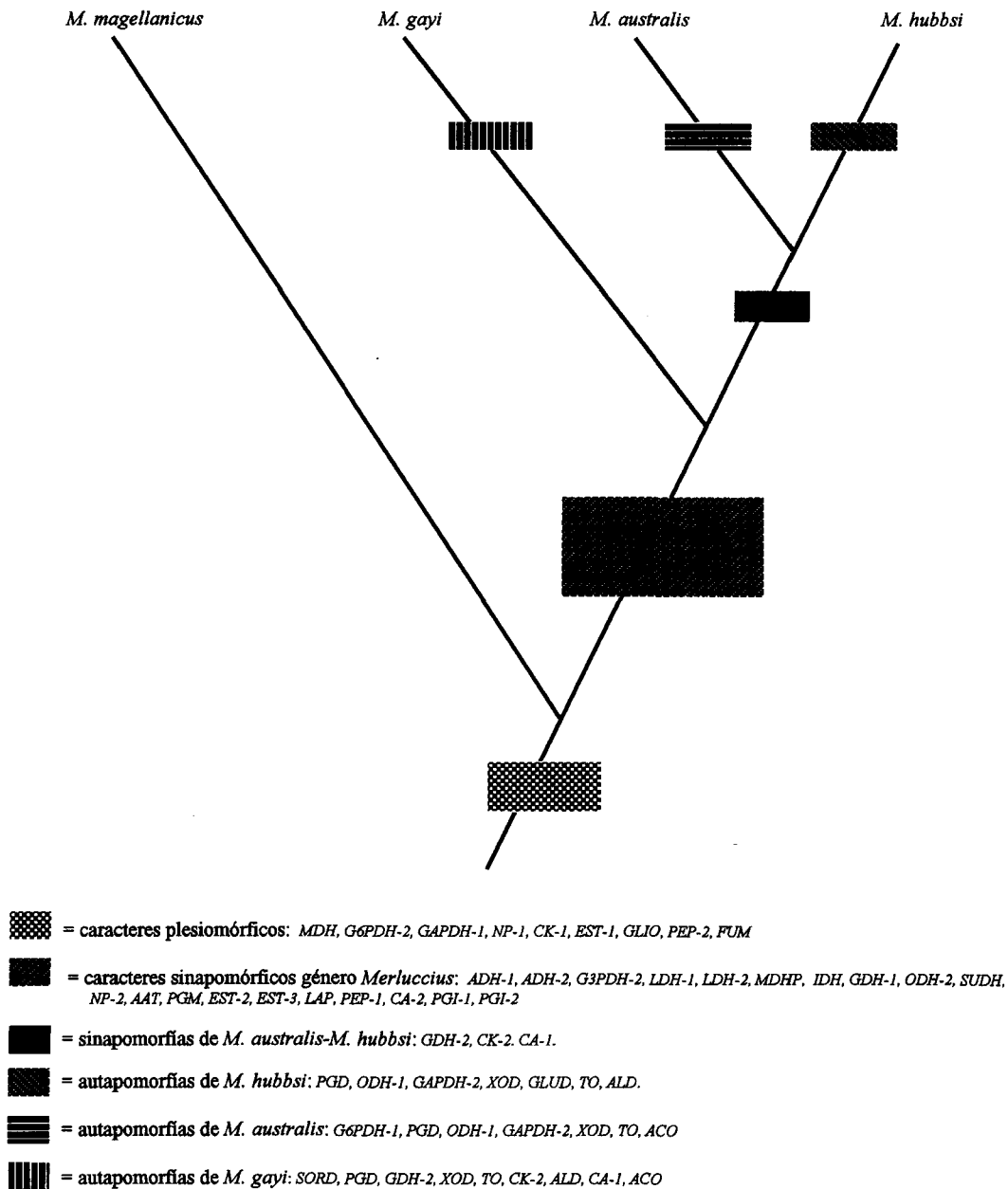


Fig. 2. Cladograma obtenido a partir de loci enzimáticos como caracteres filogenéticos para las Merluzas del Pacífico Sur.

Cladogram made with the enzymatic loci as phylogenetic characters for Southeastern Pacific Hakes.

ese clado los caracteres *G3PDH-1*, *ODH-1* y *GLUD* (números 3, 14 y 19 en la Tabla 4) y en tal caso los caracteres postulados como sinapomorfías del clado *M. australis*-*M. hubbsi* podrían corresponder a sinapomorfías del género.

Los valores de similitud genética entre *M. gayi* y *M. hubbsi* de 0,691 y de distancia genética de 0,369, coinciden con el valor de calibración usado por Stepien & Rosenblatt (1996), donde calculan aproximadamente la separación entre de *M. hubbsi* y *M. gayi* entre 2,3 – 2,6 millones de años.

Según lo propuesto por Inada (1981), Kabata & Ho (1981), Fernández (1985), Ho (1990) y Stepien & Rosenblatt (1996), las especies de merluzas del Pacífico Oriental se habrían originado de una población ancestral del Noreste Atlántico que migró inicialmente hacia el Pacífico a través del Istmo de Panamá, el cual se cerró durante el Plioceno hace unos 3,5 millones de años (Kennett 1982). El análisis filogenético basado en caracteres genéticos es coincidente con lo propuesto por estos autores.

Los resultados fenéticos y cladísticos muestran a *M. hubbsi* y *M. australis* como taxa hermanos, concordando con Ho (1990). Sin embargo, la posición de *M. gayi* no coincide con la proposición de este último autor. Según lo encontrado en el presente trabajo existe una alta cercanía genética entre *M. hubbsi*, *M. australis* y *M. gayi*, lo que podría reflejar un origen Pacífico sur para *M. hubbsi*, planteamiento que estaría de acuerdo con la proposición de Inada (1981) y concuerda con la cercanía genética encontrada por Stepien & Rosenblatt (1996) entre *M. gayi* y *M. hubbsi* más que esta última con *M. productus*. Se mantiene como elemento de discusión, la posición de *M. productus*, especie de la cual lamentablemente no se contó con material y por lo tanto, no pudo ser incluida en el presente trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue realizada con el financiamiento del Proyecto FONDECYT 1950057. Los autores agradecen los comentarios y sugerencias de dos revisores anónimos.

LITERATURA CITADA

- CARLSON JW, AC WILSON & RD MAXSON (1978) Do albumin clocks run on time?. A reply. *Science* 200: 1183-1185.
- COHEN DM (1984) Gadiformes: Overview. En: Moser HG et al. (eds) *Ontogeny and systematics of fishes 1: 259-265*. ASIH Special Publications
- COHEN D, T INADA, T IWAMOTO & N SCIALABBA (1990) *Gadiform fishes of the world (Order Gadiformes)*. An annotated and illustrated catalogue of cods, hakes, grenadiers and other gadiform fishes known to date. FAO Fisheries Synopsis No. 125, Vol. 10, Rome. 442 pp.
- ESCH GW & JC FERNANDEZ (1993) *A functional biology of parasitism, Ecological and evolutionary implications*. Chapman & Hall, London. 338 pp.
- FERNANDEZ J (1985) Estudio parasitológico de *Merluccius australis* (Hutton, 1872) (Pisces: Merlucciidae): Aspectos sistemáticos, estadísticos y zoogeográficos. *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción (Chile)* 56: 31-41.
- GRANT WS, I BECKER & R LESLIE (1988) Evolutionary divergence between sympatric species of southern African hakes, *Merluccius capensis* and *Merluccius paradoxus*. I. Electrophoretic analysis of proteins. *Heredity* 61: 13-20.
- HARRIS H & DA HOPKINSON (1976) *Handbook of enzymes electrophoresis in human genetics*. North Holland Publishing Company. Amsterdam. 205 pp.
- HO J (1990) Phylogeny and biogeography of hakes (*Merluccius*; Teleostei): A cladistic analysis. *Fishery Bulletin U.S.* 88:95-104.
- HOWES GJ (1991) Anatomy, phylogeny and taxonomy of the gadoid fish genus *Macruronus* Gunther, 1873, with a revised hypothesis of gadoid phylogeny. *Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology)* 51:77-110.
- INADA T (1981) Studies on the merlucciid fishes. *Far Seas Fisheries Research Laboratory Bulletin* 18:1-172.
- INADA T (1989) Current status of the systematics of Merlucciidae. En: Cohen DM (ed) *Papers on the systematics of Gadiform fishes*. Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series 32: 197-207.
- INADA T (1990) Merlucciidae En: Cohen DM et al. (eds) *FAO species catalogue. Gadiform fishes of the world (Order Gadiformes)*. An annotated and illustrated catalogue of cods, hakes, grenadiers, and other gadiform fishes known to date. FAO Fisheries Synopsis N°125, 319-344.
- KABATA Z & JS HO (1981) The origin and dispersal of hakes (genus *Merluccius*: Pisces: Teleostei). As indicated by its copepods parasites. *Oceanography and Marine Biology Annual Review* 19: 381-404.
- KELLOG A & JA BIRCHLER (1993) Linking phylogeny and genetics: *Zea mays* as a tool for phylogenetic studies. *Systematic Biology* 42: 415-439.
- KENNETT J (1982) *Marine geology*. Prentice Hall, USA. 813 pp.
- MADDISON WP & DR MADDISON (1992) *MacClade. Analysis phylogeny and character evolution*. version 3. Sinauer Associates, Inc. Publ. Massachusetts. USA.
- NEI M (1972) Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283-292.

- OKAMURA O (1989). Relationships of the suborder Macruroidei and related groups with comments on Merlucciidae and *Steindachneria*. En: Cohen DM (ed) Papers on the systematic of Gadiform fishes. Natural History Museum Los Angeles County, Science Series 32: 129-140.
- RIDGWAY GJ, SW SHERBOURNE & RD LEWIS (1970) Polymorphism in the esterases of Atlantic herring. Transaction of the American Fishery Society 99: 145-151.
- ROLDAN MI (1991) Enzymatic polymorphisms in the Argentinean Hake, *Merluccius hubbsi* Marini, of the Argentinean continental shelf. Journal of Fish Biology 39: 53-59.
- SELANDER RK, M SMITH, SY YANG, WE JOHNSON & JB GENTRY (1971) Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old field mouse (*Peromyscus polionotus*). University of Texas Studies in Genetics 6: 49-90.
- SHAKLEE JB, FW ALLENDORF, DC MORIZOT & GC WHITT (1990) Gene nomenclature for protein coding loci in fish. Transactions of the American Fishery Society 119: 2-15.
- SHAW CR & R PRASAD (1970) Starch gel electrophoresis of enzymes- a compilation of recipes. Biochemical Genetics 4: 297-320.
- SICILIANO MJ & CR SHAW (1976) Separation and visualization of enzymes on gels. En: Smith I (ed) Chromatographic and electrophoretic techniques 2: 185-209. Heinemann, London.
- STEPIEN CA & RH ROSENBLATT (1996) Genetic divergence in Antitropical Pelagic Marine Fishes (*Trachurus*, *Merluccius*, and *Scomber*) between North and South America. Copeia 1996: 586-598.
- SWOFFORD DL (1989) PAUP. Phylogenetic Analysis using parsimony. version 3. Illinois Natural History Survey, USA.
- SWOFFORD DL & RB SELANDER (1989) Biosys 1.7. A Computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Illinois National History Survey. 43 pp.
- SZIDAT L (1955) La fauna de parásitos de *Merluccius hubbsi* como carácter auxiliar para la solución de los problemas sistemáticos y zoogeográficos del género *Merluccius*. Comunicación Instituto Nacional Investigación Ciencias Naturales, Buenos Aires, 3: 1-54.
- VAWTER AT, ROSENBLATT R & GC GORMAN (1980) Genetic divergence among fishes of the Eastern Pacific and the Caribbean: support for the molecular clock. Evolution 34: 705-711.
- WILEY EO, D SIEGEL-CAUSEY, DR BROOKS & VA FUNK (1991) The complete cladist. A primer of phylogenetics procedures. University of Kansas Museum of Natural History, Special Publication 19: 1-158.