

---

# ESPECIACIÓN VICARIANTE EN EL GÉNERO *Gephyrocharax* Eigenmann 1912 (PISCES: CHARACIDAE: GLANDULOCAUDINAE) DE VENEZUELA

ANA BONILLA-RIVERO, HÉCTOR LÓPEZ-ROJAS  
y ANTONIO MACHADO-ALLISON

---

Las polémicas actuales acerca del origen de los patrones de diversidad que se observan en la naturaleza requiere, más allá de la simple descripción de la multiplicidad de los patrones observados, tratar de alcanzar un nuevo entendimiento acerca de las causas de la formación de nuevas especies (especiación), para tratar de encontrar evidencias que expliquen los procesos involucrados en la aparición y conservación de tales patrones. En este sentido se encuentran en la literatura dos perspectivas principales: la sistemática descriptiva, cuyo interés se centra en la descripción de los diferentes patrones (morfológico, genético, etológico, embriológico) observables actualmente en los grupos de organismos que ocupan diferentes ambientes y el punto de vista evolutivo, que otorga mayor importancia a los procesos que han dado origen a tales patrones de diversidad.

La mayoría de los autores concuerdan en una secuencia ordenada de eventos que definen la aparición de nuevas especies, la cual, en una forma abreviada, puede describirse de la manera siguiente: inicialmente un linaje parental se divide con la concurrente aparición de

diferencias entre los linajes divergentes. Tales diferencias, que causan una reducción (o eventual supresión) del flujo genético entre los linajes, hacen que la separación de éstos se torne irreversible y eventualmente produzca una nueva identidad en cada linaje divergente.

La forma más aceptada de especiación ha sido el modelo alopátrico propuesto por Mayr (1963), donde la aparición de una barrera que promueva la separación espacial de los linajes divergentes es esencial para el proceso de diferenciación y aparición de nuevas especies. En el modelo alternativo de especiación simpátrica, propuesto por Bush (1969, 1975), entre otros, los individuos de una población que se desplacen a un nuevo hábitat (o a un nuevo huésped en el caso de especies parásitas), como consecuencia de una preferencia genéticamente establecida, pueden originar una nueva población genéticamente aislada, diferente de la población parental (Endler, 1977). En esta propuesta, la separación espacial de los nuevos linajes no es requisito para la eventual diferenciación y aparición de nuevas especies.

Desde una perspectiva muy general, los análisis de patrones

morfológicos han estado tradicionalmente dirigidos a la asociación entre caracteres propios del fenotipo de individuos de poblaciones locales, en respuesta a variables ambientales (Lauder, 1981). Tales comparaciones morfométricas incluyen el método de las cerchas (*box truss*) para la comparación de hitos homólogos o *landmarks* (López-Rojas, 1982; Strauss y Bookstein, 1982; Bookstein *et al.*, 1985; Machado-Allison *et al.*, 1990; Machado-Allison y Fink, 1991; 1996); la utilización de video-digitalización de imágenes (Machado-Allison y Fink, 1991; Chernoff y Machado-Allison, 1999); la incorporación de aparatos como el diágrafo (López-Rojas, 1992) y los análisis estadísticos como el de componentes principales y la modificación propuesta por Humphries *et al.* (1981) para eliminar el efecto del tamaño en el análisis de las formas. Los ponentes de un enfoque estrictamente genético observan por el contrario que, a pesar de que se han reportado diferencias selectivas entre genotipos para loci que codifican diferentes proteínas, la mayoría de las diferencias encontradas son selectivamente neutras o a lo sumo, sujetas a fuerzas selectivas débiles. La diferenciación electroforética refleja, con

---

**PALABRAS CLAVE / Especiación / Morfología Cuantitativa / Isoenzimas / Biogeografía / Peces /**

Recibido: 13/08/2001. Modificado: 28/01/2002. Aceptado: 31/01/2002

Ana Bonilla-Rivero. Licenciada en Biología, Universidad Central de Venezuela (UCV). Doctor en Biología Mención Ecología, UCV. Docente-Investigador, Laboratorio de Genética y Morfología Evolutiva de Peces, Instituto de Zoología Tropical (IZT), Facultad de Ciencias, UCV. Dirección: Instituto de Zoología Tropical, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Apartado 47058 Los Chaguaramos, Caracas 1041-A. e-mail: abonilla@strix.ciens.ucv.ve

Héctor López-Rojas. Licenciado en Biología, UCV. Ph.D., Duke University, EEUU. Docente-Investigador, Laboratorio de Genética y Morfología Evolutiva de Peces, Instituto de Zoología Tropical (IZT), Facultad de Ciencias, UCV.

Antonio Machado-Allison. Licenciado en Biología, UCV. Ph.D., Duke University, EEUU. Docente-Investigador, Laboratorio de Biosistemática de Peces, Instituto de Zoología Tropical (IZT), Facultad de Ciencias, UCV.

---

mayor probabilidad, tasas de migración y deriva génica, más que adaptaciones locales (Leary y Booke, 1990).

La imprecisión que se halla en la literatura acerca de los factores que determinan la aparición de nuevas especies, es un reflejo de la dificultad para la determinación de las causas últimas de los patrones de diversidad que se observa en los diferentes ambientes. Ciertamente, la morfología determina en cierta medida el intervalo ecológico del fenotipo, pero al mismo tiempo puede limitar la distribución geográfica de las poblaciones, así como la coexistencia de poblaciones en comunidades locales (Ricklefs, 1987; 1988). Otro aspecto importante muchas veces olvidado en algunos análisis, es el papel que juegan características filogenéticamente conservativas de los organismos y que sólo pueden ser evidenciadas mediante análisis filogenéticos e históricos de grupos monofiléticos (Lundberg *et al.*, 1986; Lauder y Liem, 1989). De esta manera, la aparición de una novedad evolutiva en una población local podría ser originada por un factor ambiental y luego ser moldeado por un factor selectivo o neutro.

De una manera general se postula que si los intervalos de distribución de los grupos considerados no exhiben superposición, se evidenciarían procesos de especiación alopátrica, mientras que superposiciones extensas apuntarían hacia la presencia de simpatria o parapatría. Las condiciones que promueven uno u otro tipo de especiación y el problema asociado de asignar un valor de jerarquía a cada uno de estos fenómenos en la explicación de los patrones de diversidad observados. Sin embargo, puede interpretarse en una forma más objetiva mediante el estudio de organismos cercanamente relacionados, con una clara comprensión de sus relaciones filogenéticas, su distribución geográfica y, más importante, las circunstancias geológicas bajo las cuales se han producido tales patrones de diversidad en los lugares donde existen las especies consideradas.

Con relación a los patrones de diversidad de los peces de aguas continentales de Venezuela, se tiene poco conocimiento sobre su distribución geográfica, utilización de hábitats e hipótesis resueltas de relaciones filogenéticas. Recientemente, en Venezuela se han iniciado estudios acerca de la distribución geográfica de las especies de peces de agua dulce principalmente de la región sur del país (Chernoff *et al.*, 1991; Lasso *et al.*, 1991; Schaefer y Provenzano, 1993; Provenzano *et al.*, 1995; Lasso y Provenzano, 1997).

El género *Gephyrocharax* representa un ejemplo interesante para la realización de estudios de variación geográfica

y especiación, ya que las especies que lo conforman se diferencian únicamente mediante patrones de coloración de las aletas y en algunas manchas corporales (Schultz, 1944; Dahl, 1971) y presentan un patrón de distribución geográfica muy particular. Dentro del género se reconocen actualmente 10 especies (Schultz, 1944), distribuidas desde Costa Rica hasta Ecuador, sobre la pendiente pacífica de los

Andes y en las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas (Weitzman y Burns, 1995). En el patrón de distribución de las especies presentes en Venezuela, *G. valencia*, *G. venezuelae* y *G. melanocheir*, predomina la condición alopátrica, excepto por dos localidades en la región centro-occidental donde se encuentran *G. valencia* y *G. venezuelae* en simpatria.

Con base en las premisas anteriores, se establece como objetivo de este trabajo obtener información morfométrica y genética básica de las especies representativas del género *Gephyrocharax* (*G. valencia*, *G. venezuelae* y *G. melanocheir*; Characidae: Glangulocaudinae) en Venezuela, para tratar de determinar el nivel de diferenciación morfológica y genética que pueda existir entre ellas y, con la ayuda de la evidencia geológica disponible sobre la región, establecer una hipótesis biogeográfica que incorpore los posibles procesos evolutivos que han tenido lugar durante la historia de este grupo.

## Materiales y Métodos

### Morfometría

Para los análisis morfométricos se procesaron 81 ejemplares, 31 de ellos pertenecientes a *G. valencia*, 30 a *G. venezuelae* y 20 a *G. melanocheir*. En este estudio se utilizaron ejemplares colectados especialmente para este trabajo con chinchorros, así como material correspondiente a la Colección de Peces del Museo de Biología de la Universidad Central de Venezuela (MBUCV). Las localidades estudiadas para cada una de las especies fueron: *G. valencia*: Quebrada Mariara, Aragua (MBUCV-V-3029; 9 ejemplares); Boca del río, Lago de Valencia (MBUCV-V-3023; 1 ejemplar); Río San Diego (MBUCV-V-3051; 1 ejemplar); Río Cúpira, Cuenca del Lago de Valencia (material no catalogado; 20 ejemplares). *G. venezuelae*: Río Alpagatón (material

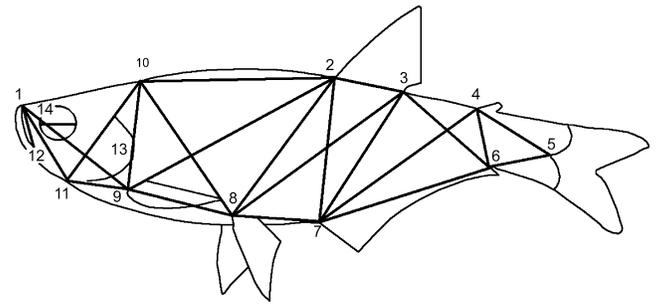


Figura 1. Esquema representativo de la aplicación del método de las cerchas para *Gephyrocharax*, indicando la localización de los hitos o puntos homólogos (1-11) sobre el contorno del pez. Se indican además el final del maxilar (12), el final del opérculo (13) y el diámetro del ojo (14).

no catalogado; 18 ejemplares); Río Urama, Cuenca del Caribe (material no catalogado; 12 ejemplares). *G. melanocheir*: Río Meachiche, Cuenca del Caribe (material no catalogado; 20 ejemplares).

Una vez fijados en formol al 10% y preservados posteriormente en alcohol al 70%, los ejemplares se procesaron siguiendo el método de las cerchas (Strauss y Bookstein, 1982), que consiste en la determinación de hitos o puntos homólogos en el entorno de la forma externa de los peces, tales que los mismos sean identificables y reproducibles en todos los ejemplares estudiados. Esta técnica proporciona información acerca de las variaciones en la forma no sólo en el plano longitudinal, sino también en el vertical. Para las especies en estudio, la combinación de 11 puntos homólogos dió como resultado 23 medidas correspondientes al diseño de cerchas efectuado (Figura 1). El aporte de 10 medidas convencionales (Tabla I; x8, x23-x34) condujo a un total de 33 medidas morfométricas por cada ejemplar. Estas medidas fueron realizadas con un Vernier Helios de 0,05mm de apreciación.

El programa NewPC (versión 0.93) de Humphries y Swofford se utilizó para el análisis de componentes principales cizallados (*Sheared Principal Component Analysis*), con base en las medidas obtenidas mediante el método de las cerchas. Los valores de las distancias interpuntos homólogos se compararon empleando una matriz de covarianza de los logaritmos de los mismos. Para caracterizar la covariación interpuntos homólogos, se graficaron las cargas de las mismas en el espacio definido por CP 1, CP 2 y CP 3.

### Electroforesis

Los ejemplares utilizados para los análisis genéticos fueron capturados en el Río San Diego, Cuenca del

TABLA I  
MEDIDAS MORFOMÉTRICAS OBTENIDAS MEDIANTE EL MÉTODO DE LAS  
CERCHAS (X1-X23) SOBRE EJEMPLARES DEL GÉNERO *Gephyrocharax*\*

VARIABLE	INTERPUNTOS	DISTANCIA
x1	1 - 10	Hocico-Supraoccipital
x2	1 - 9	Pre-pectoral
x3	1 - 11	Hocico-Itsmo
x4	10 - 9	Supraoccipital-Origen aleta pectoral
x5	10 - 11	Supraoccipital-Itsmo
x6	9 - 11	Itsmo-Origen aleta pectoral
X7	10 - 2	Supraoccipital-Origen aleta dorsal
X8	12 - 1	Largo del maxilar
X9	10 - 8	Supraoccipital-Origen aleta pélvica
X10	2 - 8	Origen aleta dorsal-Origen aleta pélvica
x11	2 - 9	Origen aleta dorsal-Origen aleta pélvica
x12	8 - 9	Origen aleta pélvica-Origen aleta pectoral
x13	2 - 3	Base de la aleta dorsal
x14	2 - 7	Origen aleta dorsal-Origen aleta anal
x15	3 - 7	Final aleta dorsal-Origen aleta anal
x16	3 - 8	Final aleta dorsal-Origen aleta pélvica
x17	7 - 8	Origen aleta anal-Origen aleta pélvica
x18	3 - 4	Final aleta dorsal-Origen aleta adiposa
X19	3 - 6	Final aleta dorsal-Final aleta anal
X20	4 - 6	Origen aleta adiposa-Final aleta anal
x21	4 - 7	Origen aleta adiposa-Origen aleta anal
x22	6 - 7	Base aleta anal
x23	4 - 5	Origen aleta adiposa-Complejo hipural
x24	5 - 6	Complejo hipural-Final aleta anal
x25	1 - 2	Pre-dorsal
x26	1 - 7	Pre-anal
x27	1 - 5	Largo estándar
x28	1 - 8	Pre-pélvica
X29	-	Diámetro del ojo
X30	-	Ancho del cuerpo al nivel de la pectoral
x31	-	Ancho interorbital
x32	1 - 13	Largo de la cabeza
x33	1 - 12	Largo del hocico

\*Medidas convencionales (x8, x25-x33), resaltadas.

Lago de Valencia (*G. valencia*), Río Alpagatón, Cuenca del Caribe (*G. venezuelae*) y Río Meachiche, Cuenca del Caribe (*G. melanocheir*), e inmediatamente congelados completos en hielo seco para transportarlos al laboratorio donde fueron preservados a -80°C hasta su procesamiento. Siguiendo el método de electroforesis en gel de almidón en un sistema horizontal, se procesaron muestras de músculo esquelético de la región dorsal de 20 ejemplares de cada una de las especies de *Gephyrocharax*, según indicaciones de Shaw y Prasad (1970) y Buth y Murphy (1990). Con los homogenados (Tris/EDTA pH:7.0) se ensayaron 12 sistemas enzimáticos: lactato deshidrogenasa (LDH, E.C.1.1.1.27), glucosa-6-fosfato isomerasa (GPI, E.C.5.3.1.9), fosfoglucomutasa (PGM, E.C.5.4.2.2), malato deshidrogenasa (MDH, E.C.1.1.1.37), enzima málica (ME, E.C. 1.1.1.40), isocitrato deshidrogenasa (IDH, E.C.1.1.1.42), alcohol deshidrogenasa (ADH, E.C.1.1.1.1), glucosa deshidrogenasa (GDH, E.C.1.1.1.47), glucosa-6-fosfato deshidro-

genasa (G6PDH, E.C. 1.1.1.49), fosfogluconato deshidrogenasa (PGDH, E.C.1.1.1.44), esterasas generales (EST, E.C.3.1.1.) y superóxido dismutasa (SOD, E.C.1.15.1.1), además de proteínas generales (GP). La nomenclatura de los sistemas enzimáticos sigue las normas propuestas por Shaklee *et al.* (1990) para estudios electroforéticos en peces. Para el revelado de estos sistemas enzimáticos se siguieron las indicaciones de Aebersold *et al.* (1987), Triest (1989) y Buth y Murphy (1990), con ligeras modificaciones. Para la nomenclatura de los loci presuntivos observados sobre cada gel, así como sus alelos correspondientes, se siguieron las indicaciones de Shaklee *et al.* (1990); los loci se enumeraron en forma consecutiva comenzando por el número 1, desde el más catódico hasta el más anódico; al alelo más común se le asignó el número 100 y al resto de los alelos el número correspondiente a la movilidad relativa con respecto al alelo \*100; los genotipos se identifican con las iniciales de la enzima seguidas por un guión y

el número del locus y finalmente la composición alélica separada por una barra (p. ej. *GPI-1\*100/100*), todo esto en letras itálicas.

Una vez definidos los loci presuntivos se procedió a la identificación de los genotipos individuales para cada locus en las tres poblaciones de las especies en estudio, siguiendo las sugerencias de Richardson *et al.*, 1986; Leary y Booke, 1990 y May, 1992, para la interpretación de zimogramas. Con los resultados obtenidos (genotipos individuales) se calcularon las frecuencias alélicas, la variabilidad genética intraespecífica mediante el porcentaje de polimorfismo (*P*) y heterocigosidad promedio (*H*), las desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg de cada locus para las poblaciones analizadas, la similaridad (*I*) y/o distancia genética (*D*) entre las tres especies, y la variabilidad genética interespecífica ( $F_{ST}$ ), con la utilización del programa BIOSYS-1 versión 1.7 (Swofford y Selander, 1989).

## Resultados

### Morfometría

Las diferencias en la forma corporal de los individuos de diferentes especies, o de poblaciones de la misma especie, pueden ser analizadas mediante la comparación multivariada de las medidas (variables) interpuntos homólogos en las cerchas construidas sobre el perfil de los individuos, utilizando componentes principales. Adicionalmente, el cizallamiento de los componentes principales tiene el efecto de remover el efecto del tamaño de los ejemplares, de manera que se maximizan las diferencias de aquellas variables que contribuyen a la separación de los grupos por su forma, independiente del tamaño.

Como resultado del análisis de componentes principales de estas medidas interpuntos, el primer componente es congruente con un componente de tamaño; todos los coeficientes son positivos, con un intervalo muy parecido entre ellos. Las cargas de los restantes componentes examinados están representadas por valores positivos y negativos, lo cual evidencia componentes de forma.

El análisis morfométrico para cada una de las especies determinó que existe un bajo nivel de dimorfismo sexual en las poblaciones de *G. valencia* y *G. venezuelae*, en contraste con una clara diferenciación entre los machos y hembras de *G. melanocheir*. Las variables que contribuyen en mayor grado a las diferencias en esta última especie, están asociadas principalmente a la región del maxilar, a la distancia entre las aletas

TABLA II  
CARGAS DE LOS CUATRO PRIMEROS COMPONENTES PRINCIPALES  
(2-4, CIZALLADOS) DE LAS VARIABLES ANALIZADAS (DISTANCIAS EN  
LAS CERCHAS) CORRESPONDIENTES A LAS TRES ESPECIES *Gephyrocharax*\*

% Varianza por componente	83,2      5,7      2,6      1,3			
	Tamaño	Forma		
Variable	CP 1	CP 2	CP 3	CP 4
Hocico-Supraoccipital	0,83	-0,217	0,154	0,008
Pre-pectoral	0,170	0,086	-0,126	-0,041
Hocico-Itsmo	0,140	0,481	-0,372	-0,041
Supraoccipital-Origen aleta pectoral	0,155	-0,103	0,112	-0,016
Supraoccipital-Itsmo	0,103	-0,161	0,107	-0,027
Itsmo-Origen aleta pectoral	0,084	-0,325	0,125	-0,081
Supraoccipital-Origen aleta dorsal	0,079	0,130	-0,036	-0,131
Largo del maxilar	0,253	0,237	-0,024	0,067
Supraoccipital-Origen aleta pélvica	0,233	0,152	0,276	0,302
Origen aleta dorsal-Origen aleta pélvica	0,254	-0,010	-0,065	-0,013
Origen aleta dorsal-Origen aleta pélvica	0,260	0,082	0,030	0,027
Origen aleta pélvica-Origen aleta pectoral	0,167	0,244	0,434	0,151
Base de la aleta dorsal	0,081	-0,059	0,033	-0,321
Origen aleta dorsal-Origen aleta anal	0,217	-0,183	-0,009	0,058
Final aleta dorsal-Origen aleta anal	0,205	-0,173	-0,078	-0,110
Final aleta dorsal-Origen aleta pélvica	0,228	-0,039	-0,114	-0,343
Origen aleta anal-Origen aleta pélvica	0,156	0,062	0,054	-0,321
Final aleta dorsal-Origen aleta adiposa	0,108	-0,235	0,149	0,023
Final aleta dorsal-Final aleta anal	0,150	-0,137	-0,045	-0,002
Origen aleta adiposa-Final aleta anal	0,114	0,071	-0,235	-0,107
Origen aleta adiposa-Origen aleta anal	0,208	-0,217	-0,156	-0,143
Base aleta anal	0,196	-0,079	-0,268	-0,077
Origen aleta adiposa-Complejo hipural	0,073	-0,102	-0,360	0,474
Complejo hipural-Final aleta anal	0,055	-0,270	-0,208	0,400
Pre-dorsal	0,249	0,100	0,001	0,070
Pre-anal	0,265	0,169	0,204	-0,044
Largo estándar	0,258	-0,043	-0,091	0,155
Pre-pélvica	0,242	0,165	0,189	0,192
Diámetro del ojo	0,038	-0,018	0,052	-0,086
Ancho del cuerpo al nivel de la pectoral	0,129	0,115	-0,170	0,068
Ancho interorbital	0,070	-0,051	-0,019	0,057
Largo de la cabeza	0,152	0,166	-0,120	-0,077
Largo del hocico	0,074	0,071	-0,104	0,032

\*Se resaltan las variables que más contribuyen con la variabilidad por cada componente.

pectoral y pélvica y a la longitud del pedúnculo caudal (Figura 2).

El análisis interespecífico mostró que los cuatro primeros componentes explicaron el 92,8% de la varianza total en la muestra estudiada (Tabla II). *G. valencia* y *G. venezuelae*, presentaron formas corporales muy parecidas, mientras que *G. melanocheir* mostró una forma considerablemente distinta a las otras dos.

El espacio morfológico definido por los componentes II y IV (Figura 3), contrasta a *G. melanocheir* en la extrema derecha de la figura con *G. venezuelae* y *G. valencia* en la región izquierda de la misma. Los ejemplares de

*G. melanocheir* presentaron un mayor desarrollo del hocico, la aleta pectoral en una posición más anterior y el pedúnculo caudal proporcionalmente más desarrollado que las otras dos especies.

La combinación de los componentes II y IV, y en menor medida del componente III (no representado en la Figura, ver Tabla II), separa a *G. valencia* de *G. venezuelae*, contrastando variables de la región de la cabeza y parte media del cuerpo, en adición al desarrollo del pedúnculo caudal. Es importante resaltar que existe una zona de superposición de algunos individuos de ambas especies, lo cual denota las formas corporales más parecidas entre ellas.

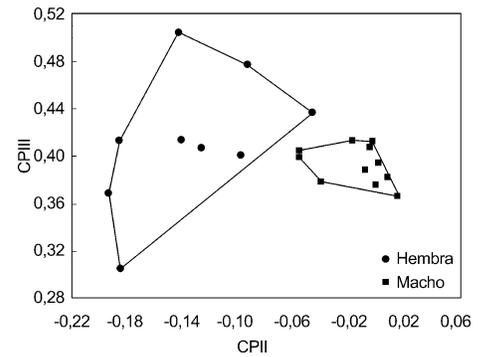


Figura 2. Morfoespacio definido por los componentes II y III para *G. melanocheir*.

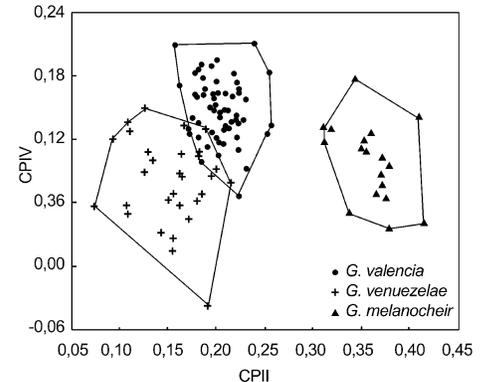


Figura 3. Morfoespacio definido por los componentes II y IV para las tres especies de *Gephyrocharax*.

#### Electroforesis

*Sistemas enzimáticos y loci presuntivos.* Once de los sistemas proteícos ensayados, revelaron bandas lo suficientemente bien definidas como para establecer los patrones iso y aloenzimáticos para dieciocho loci presuntivos; únicamente los sistemas SOD y G6PDH no mostraron un revelado nítido como para identificar los loci presuntivos que los conforman. Las esterasas revelaron dos loci anódicos y heterócigos, con *EST-1*\* bien definido para hígado y *EST-2*\* para músculo (Figura 4A). Glucosa-6-fosfato isomerasa (GPI) mostró dos loci, con *GPI-A*\* heterócigo y *GPI-B*\* monomórfico (Figura 4B). Los sistemas isocitrato deshidrogenasa (IDH) y enzima málica (ME) revelaron un único locus monomórfico cada uno de ellos (Figuras 5A y B, respectivamente), mientras que la fosfoglucomutasa (PGM) presentó un único locus heterócigo (Figura 5C). Estos cinco sistemas revelaron siete loci presuntivos posiblemente diagnósticos para *Gephyrocharax*.

En los sistemas alcohol deshidrogenasa (ADH), glucosa deshidrogenasa (GDH) y fosfogluconato deshidrogenasa (PGDH) se reveló un único locus

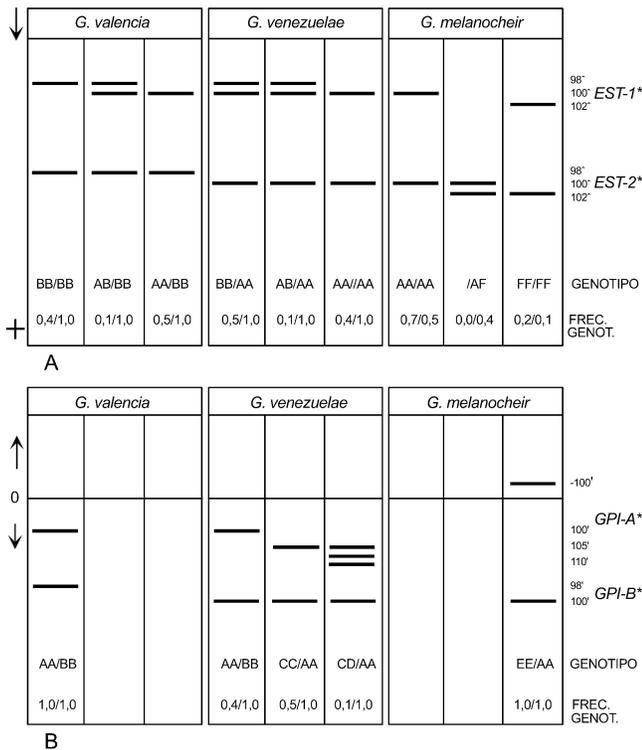


Figura 4. Esquemas de los electromorfos observados para los sistemas (A) EST y (B) GPI, en las tres especies de *Gephyrocharax* estudiadas. Se indican los genotipos y su frecuencia observada.

presuntivo para cada uno de ellos. En el caso de las proteínas generales (GP) se revelaron dos loci; la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) mostró dos loci bien definidos, con una mayor actividad del locus *LDH-A\**, mientras que la malato deshidrogenasa (MDH) presentó cuatro loci con mayor actividad para el locus *MDH-1\**. Todos los loci presuntivos antes mencionados resultaron ser anódicos, monomórficos e iguales para las tres poblaciones de las especies de *Gephyrocharax*.

Para algunos sistemas, como por ejemplo las esterasas generales (EST), quedó de manifiesto que existe una expresión diferencial de las isoenzimas que los conforman según el tipo de tejido del cual proviene. Así, el locus *EST-1\** se revela mejor en hígado, mientras que *EST-2\** tiene su mayor actividad en la musculatura blanca; esta condición se presentó por igual para las tres especies de *Gephyrocharax*.

**Frecuencias alélicas y variabilidad genética.** En la Tabla III se detallan las frecuencias alélicas para los loci polimórficos revelados para las poblaciones estudiadas de *Gephyrocharax* (*EST-1\**, *EST-2\**, *GPI-A\**, *GPI-B\**, *IDH\**, *ME\** y *PGM\**), así como para los loci con alelos fijados. El cálculo del porcentaje de loci polimórficos (<0,990) reveló

a las especies *G. venezuelae* y *G. melanocheir* con tres loci polimórficos cada una, coincidiendo en dos de ellos: *EST-1\** y *PGM\**. Igualmente, *EST-1\** es el único locus polimórfico para la especie *G. valencia*, de manera que este locus puede considerarse como el que contiene la mayor cantidad de variación para el grupo en estudio. Los mayores valores de *h* correspondieron a los loci *GPI-A\** en *G. venezuelae*, *EST-1\** en *G. valencia* y *G. venezuelae* y *EST-2\** en *G. melanocheir*. Los restantes 14 loci revelados (*ADH\**, *GDH\**, *GP-1\**, *GP-2\**, *GPI-B\**, *IDH\**, *LDH-A\**, *LDH-B\**, *MDH-1\**, *MDH-2\**, *MDH-3\**, *MDH-4\**, *ME\** y *PGDH\**) se presentan como monomórficos, pero en algunos casos con movibilidades alélicas diferentes (*GPI-B\**, *IDH\** y *ME\**). Estos tres últimos loci, pueden representar loci diagnósticos entre las especies de *Gephyrocharax*, por las diferencias en movilidad que presentan sus alelos fijados.

Un resumen de los cálculos de *H* y *P* para las tres especies de *Gephyrocharax* se presentan en la Tabla IV. Los resultados indican que ambos valores para *G. valencia* son mucho menores que para *G. venezuelae* y *G. melanocheir*. Estas dos últimas especies poseen un nivel de polimorfismo exactamente igual y heterocigosidad promedio muy semejante, pero de origen diferente; de los

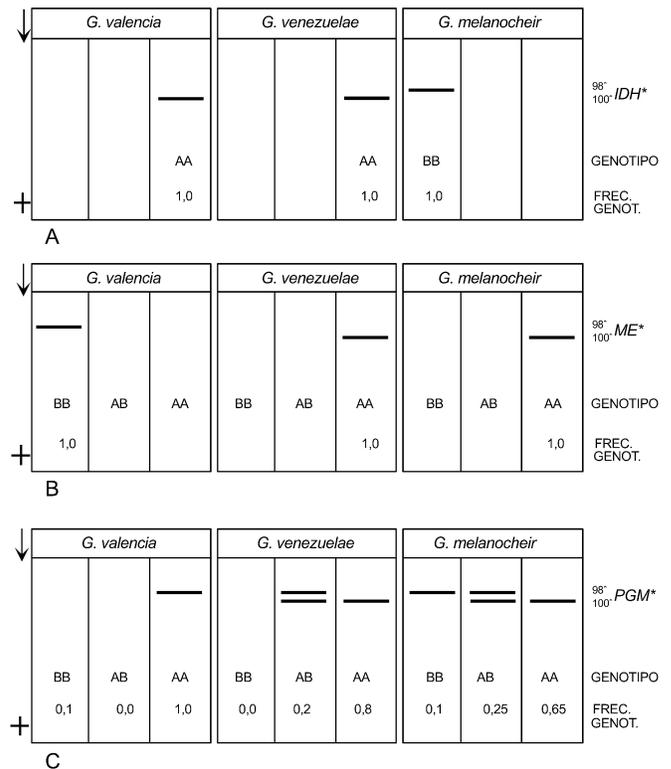


Figura 5. Esquemas de los electromorfos observados para los sistemas (A) IDH, (B) ME y (C) PGM, en las tres especies de *Gephyrocharax* estudiadas. Se indican los genotipos y su frecuencia observada.

tres loci variables de *G. venezuelae*, dos de ellos (*EST-1\** y *GPI-A\**) presentan valores muy cercanos a las frecuencias de los alelos que conforman cada locus, lo cual se traduce en altos valores de *h* y el otro locus (*PGM\**) presenta una frecuencia de 0,900 para el alelo más común, que significa un valor muy bajo de *h*. En cuanto a *G. melanocheir*, los tres loci variables (*EST-1\**, *EST-2\** y *PGM\**) muestran valores de frecuencias alélicas más equilibrados, lo que proporciona un valor moderado de *h*. Cuando se calcula *H* para cada especie, los valores se compensan y generan una heterocigosidad promedio muy similar.

El sistema enzimático de las esterasas generales se conoce por su alta variabilidad en peces (Koehn, 1969; Koehn *et al.*, 1971; Avise y Selander, 1972; Kornfield y Koehn, 1975; McKay y Miller, 1991) y están consideradas como isoenzimas poco específicas que utilizan substratos originados en el ambiente externo; este tipo de enzimas se consideran más variables que las que usan metabolitos internos específicos como substratos (Johnson, 1973). El polimorfismo detectado en GPI también contribuye en grado significativo a la diferenciación entre las especies de *Gephyrocharax*, ya que ésta, como el resto de las isoenzimas que regulan el metabolismo de la glucosa, son

sistemas fundamentales para el funcionamiento global de cada individuo. Johnson (1973) señala que "se espera que los cambios en loci cuyas enzimas regulan el flujo metabólico, produzcan alteraciones en la aptitud (fitness) mucho mayores que aquellos que afectan a las enzimas que no regulan ninguna vía metabólica". Los estudios del sistema GPI en peces óseos proveen fuerte evidencia a favor de un modelo de control genético por dos loci estructurales independientes, como resultado de una duplicación génica muy cercana a los orígenes de los teleosteos (Awise y Kitto, 1973). Inclusive, estos autores demostraron la condición ortóloga (homología en sistemática molecular) para los dos loci del sistema GPI (A y B). Cabe señalar que, además de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, la condición de ortología ha sido demostrada sólo para tres sistemas más: creatina kinasa (CK; A, B, C y D), lactato deshidrogenasa (LDH; A y B) y malato deshidrogenasa (MDH; A y B citosólicas); el uso de letras mayúsculas para la identificación de los loci en los sistemas ortólogos permite su diferenciación de los parálogos, en los que la homología no ha sido demostrada (Shaklee *et al.*, 1990).

Por otra parte, mediante el análisis de chi-cuadrado ( $X^2$ ), con base en los genotipos individuales, las frecuencias alélicas y las frecuencias genotípicas, se determinó la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg para cada uno de los loci polimórficos encontrados. Únicamente los loci *PGM\** correspondientes a *G. venezuelae* y *G. melanocheir* se encuentran en equilibrio puesto que los valores calculados de  $X^2$  son menores que el valor teórico (tabla de  $X^2$ , con 95% de confianza y un grado de libertad). Los loci *EST-1\**, *EST-2\** y *GPI-A\** presentan una desviación del equilibrio ( $X^2$  es mayor que el valor teórico), sugiriendo que, uno o varios procesos (selección, mutación, deriva génica al azar, migración) pueden estar afectando las frecuencias génicas y genotípicas de las poblaciones estudiadas. Complementando la información anterior, se determinó que todos los loci polimórficos mostraron una deficiencia de heterocigotos para las poblaciones analizadas, salvo el locus *PGM\** de *G. venezuelae*.

*Coefficientes de similitud y distancias genéticas.* El estadístico  $F_{ST}$ , representa la medida estándar de divergencia en loci individuales entre poblaciones (Allendorf y Phelps, 1981); en estos datos se observa que el coeficiente  $F_{ST}$  promedio es relativamente elevado (0,696), con *EST-2\**, *GPI-A\**, *GPI-B\**, *IDH\** y *ME\** como los loci que mayormente contribuyen con la diferenciación entre las poblaciones de *Gephyrocharax*.

TABLA III  
FRECUENCIAS ALÉLICAS Y HETEROCIGOSIDAD POR LOCUS (H; ESTIMACIÓN NO-SESGADA SEGÚN NEI, 1978) PARA LOS LOCOS POLIMÓRFICOS Y FIJADOS EN LAS POBLACIONES DE *G. valencia*, *G. venezuelae* y *G. melanocheir* ESTUDIADAS

Locus	Locus y número de individuos						
	<i>EST-1*</i> 10	<i>EST-2*</i> 20	<i>GPI-A*</i> 10	<i>GPI-B*</i> 20	<i>IDH*</i> 20	<i>ME*</i> 20	<i>PGM*</i> 20
<i>G. valencia</i>							
*98	0,450	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000
*100	0,550	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000
<i>h</i>	0,521	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>G. venezuelae</i>							
*98	0,550	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,100
*100	0,450	1,000	0,400	1,000	1,000	1,000	0,900
*105	0,000	0,000	0,550	0,000	0,000	0,000	0,000
*110	0,000	0,000	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>h</i>	0,521	0,000	0,563	0,000	0,000	0,000	0,185
<i>G. melanocheir</i>							
*98	0,000	0,150	0,000	0,000	1,000	0,000	0,225
*100	0,750	0,600	0,000	1,000	0,000	1,000	0,775
*102	0,000	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
*105	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
*110	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
*-100	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>h</i>	0,395	0,569	0,000	0,000	0,000	0,000	0,358

Es importante resaltar que los dos primeros son loci polimórficos y su contribución a la variabilidad interespecífica es apreciable, pero los restantes son loci monomórficos fijados para cada una de

las especies de *Gephyrocharax*, con un aporte máximo (1.000). Los datos electroforéticos convertidos en estimados fenéticos de diferenciación genética muestran que *G. venezuelae* y *G. melano-*

TABLA IV  
VARIABILIDAD GENÉTICA EN LOS 18 LOCOS ANALIZADOS PARA LAS POBLACIONES DE *G. valencia*, *G. venezuelae* y *G. melanocheir*

Especie	Tamaño promedio de la muestra por locus	Número promedio de alelos por locus	Porcentaje de loci polimórficos* (P)	Heterocigosidad promedio (H)	
				Contaje directo	Esperada según Hardy-Weinberg**
<i>G. valencia</i>	18,9 (1,0)	1,1 (0,1)	5,6	0,006 (0,006)	0,029 (0,029)
<i>G. venezuelae</i>	18,9 (1,0)	1,2 (0,1)	16,7	0,022 (0,013)	0,070 (0,042)
<i>G. melanocheir</i>	18,9 (1,0)	1,2 (0,1)	16,7	0,036 (0,021)	0,073 (0,041)

Entre paréntesis: error estándar.

\* Un locus se considera polimórfico si la frecuencia del alelo más común (\*100) es menor de 0,950

\*\* Estimación no-sesgada según Nei, 1978.

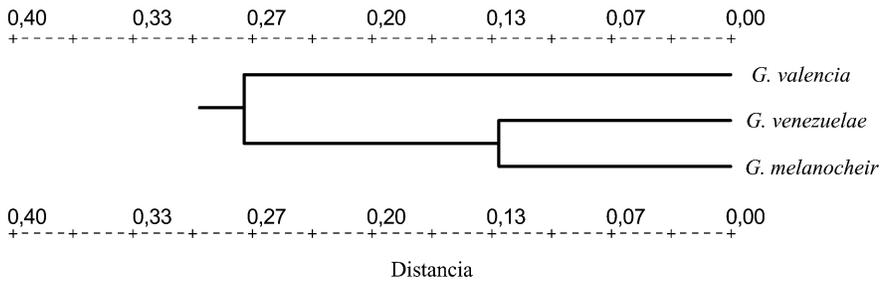


Figura 6. Análisis de agrupamiento utilizando el algoritmo UPGMA para determinar distancia genética, D, según Nei (1978) para las tres especies de *Gephyrocharax* estudiadas.

*cheir* son genéticamente muy cercanas y distanciadas de *G. valencia*. Estos resultados se representan en forma más clara en el fenograma de la Figura 6, realizado mediante un análisis de agrupamiento según algoritmo de UPGMA con los indicadores de Nei (1972; 1978).

### Discusión

El estudio de los patrones morfológicos, genéticos y de distribución geográfica y su relación con los procesos que los originan, es una tarea difícil. Sin embargo, el enfoque integral de estos elementos dentro de grupos monofiléticos, provee información más precisa que permite generar hipótesis acerca de estas complejas relaciones. Un buen

ejemplo para aplicar este tipo de enfoque multifactorial son las especies del género *Gephyrocharax* de Venezuela, en donde la caracterización morfológica basada en simples patrones de coloración muy particulares, la carencia de información genética sobre el grupo y un patrón de distribución geográfica predominantemente alopátrico, conforman un caso interesante para tratar de explicar las posibles causas que originaron la distribución actual de las especies del género.

El análisis de los datos morfométricos revela que cada una de las especies presenta patrones morfológicos particulares, según los cuales las especies *G. valencia* y *G. venezuelae* presentan mayor similitud en la forma corporal, con relación a *G. melanocheir*. Esta última

muestra, inclusive, diferencias en la forma corporal de machos y hembras adultos. Lande (1980) señala que un fenotipo dado será el resultado de fuerzas preservadoras y mecanismos que promueven las variaciones, proponiendo que la heterosis, la homeostasis genética y el flujo génico actúan como las principales fuerzas que tienden a preservar la uniformidad fenotípica. Estas fuerzas se contraponen con el efecto fundador, la deriva genética y las mutaciones. Así mismo, este autor discute que el flujo génico y la homeostasis genética confieren cohesión a una población central grande, pero que en pequeñas poblaciones periféricas aisladas, el mecanismo conocido como efecto fundador reduciría drásticamente la variabilidad genética, lo cual podría favorecer o inducir los cambios morfológicos. Este probablemente sea el mecanismo modelador de un patrón morfológico distinto en *G. melanocheir*, cuyas poblaciones, a diferencia de las otras dos especies que tienen poblaciones simpátricas, presentan un marcado aislamiento geográfico.

Los patrones genéticos indican una diferenciación entre las tres especies estudiadas, según el estadístico  $F_{ST}$ . Si se detallan los resultados obtenidos en cuanto a la similaridad genética según Nei (1972), se observa que las especies genéticamente menos parecidas, *G. valencia* y *G. melanocheir*, presentan un valor de identidad alto ( $I = 0,721$ ), es decir, que comparten el 72,1% de los alelos analizados. Por su parte *G. venezuelae* y *G. melanocheir* comparten el 87,5% de los alelos, y *G. valencia* y *G. venezuelae* tienen un 80,5% de alelos en común. El análisis de las frecuencias alélicas de los loci polimórficos y de los monomórficos fijados, indica que: 1) *G. melanocheir* posee un alelo para *EST-1\** (\*105) que no aparece en *G. valencia* ni *G. venezuelae*; 2) aunque las tres especies poseen frecuencias diferentes del alelo más común (\*100) en el locus *PGM\**, *G. valencia* y *G. venezuelae* muestran los valores de frecuencia más parecidos; 3) Para *GPI-A\**, el único alelo existente en *G. melanocheir* (\*100), no está presente en *G. valencia* ni *G. venezuelae*; 4) El locus *IDH\** de *G. venezuelae* y *G. valencia* presenta un alelo \*100 fijado, mientras que el alelo fijado para *G. melanocheir* es el \*98; y 5) Para los loci *ME* y *GPI-B\**, *G. venezuelae* y *G. melanocheir* muestran un único alelo (\*100), mientras que *G. valencia* presenta un alelo \*98 fijado. Estos resultados indican que *G. melanocheir* y *G. valencia* se diferencian claramente una de la otra, mientras que *G. venezuelae* presenta elementos génicos en común con las dos especies anteriores.

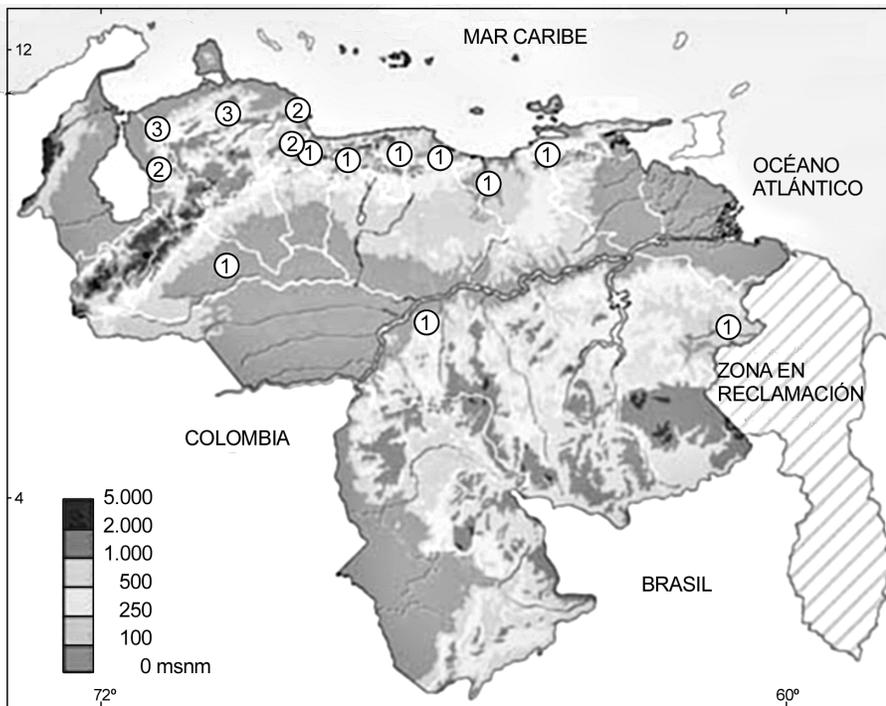


Figura 7. Mapa de distribución de las tres especies del género *Gephyrocharax* de Venezuela. Se incluyen las localidades donde se colectó en este trabajo, así como datos de las colecciones de peces del Museo de Biología de la UCV, Universidad del Zulia y UNELLEZ, y de las referencias bibliográficas citadas en el texto. 1: *G. valencia*; 2: *G. venezuelae*; y 3: *G. melanocheir*.

Las tres especies del género muestran patrones de distribución muy interesantes según se observa en la Figura 7. La especie *G. melanocheir* presenta un patrón disyunto muy particular, con representantes en la cuenca del río Magdalena de Colombia (Schultz, 1944; Dahl, 1971), en el noreste de la cuenca del Lago de Maracaibo en el Zulia (Taphorn y Lilyestrom, 1984) y en la Sierra de San Luis en Falcón (colecciones en este trabajo), para Venezuela. Por su parte, *G. venezuelae* se distribuye principalmente en el suroeste y sureste de la cuenca del Lago de Maracaibo (Schultz, 1944; Galvis *et al.*, 1997), aunque también ha sido reportada para la región oriental del Estado Falcón (Cueva del Indio, Cerro de Chichiriviche; López-Rojas *et al.*, 1996) y en algunos ríos de la Vertiente del Caribe pertenecientes a Carabobo y Falcón (Bonilla y López-Rojas, 1997). Al igual que en el caso anterior, esta distribución corresponde a un patrón disyunto de variación geográfica (*sensu* Endler, 1977), en el cual una o más poblaciones están aisladas geográficamente del resto del taxón. La especie restante, *G. valencia*, presenta una amplia distribución (Eigenmann, 1920; Schultz, 1944; Mago-Leccia, 1970; Taphorn, 1992) siendo muy común en las cuencas de los ríos Orinoco, Cuyuní, los de la vertiente del Caribe y los de la cuenca del Lago de Valencia, lo cual implica un patrón de distribución geográfico mucho más continuo que los de las dos especies anteriores. Un punto a resaltar en estas distribuciones es la condición de alopatria predominante que presentan estas tres especies, según se desprende de los muestreos realizados en el presente estudio, ya que solamente en el Río Alpagatón en la cuenca del Río Urama (vertiente del Caribe) se han encontrado en simpatria las especies *G. venezuelae* y *G. valencia*.

La distribución geográfica actual de las especies de *Gephyrocharax* estudiadas, es consistente con una sucesión de eventos vicariantes asociados con el movimiento de la desembocadura del Río Orinoco desde el noroeste del país (actual Lago de Maracaibo) hace aproximadamente 38 millones de años (Eoceno) hacia el este en su localización actual (Rod, 1981; Díaz de Gamero, 1996), seguido por el levantamiento de la Cordillera de Los Andes venezolanos. El movimiento oeste-este del sistema del Orinoco, paralelamente con el Amazonas, se asocia en el tiempo con una diversificación faunística en toda la región (Lundberg *et al.*, 1998).

Los eventos vicariantes antes mencionados posiblemente causaron el fraccionamiento de la población ancestral que originaron las especies que hoy en día conforman el género *Gephyrocharax*. Se plantea entonces que la población

ancestral se encontraba ampliamente distribuida en el proto-Orinoco (o proto-Magdalena) y debido al levantamiento de la Cordillera Oriental de Colombia y el sur de los andes merideños al final del Mioceno medio (16,2-11 m.a.), se produjo el aislamiento de sub-poblaciones en diferentes localidades del centro y noreste de Colombia y noroeste de Venezuela (actual *G. melanocheir*). Seguidamente, el desplazamiento del proto-Orinoco hacia el este, desde lo que hoy en día es el Lago de Maracaibo, hacia el este del Estado Falcón, durante el Mioceno tardío (11-5 m.a.), dejaría subpoblaciones remanentes en toda la región del sur del Lago de Maracaibo y en la brecha entre la sierra falconiana y la Cordillera de la Costa (actual *G. venezuelae*), conocida también como la depresión de Chivacoa. Finalmente, al tomar el Orinoco su curso actual (hace aproximadamente 5 m.a.), en el canal principal se mantuvo la mayoría de la población ancestral, la cual se extendió por gran parte del territorio nacional (actual *G. valencia*).

Esta hipótesis biogeográfica, que incorpora elementos morfológicos, genéticos y geográficos, concuerda con los lineamientos del modelo de especiación alopátrica por efecto fundador propuesto por Bush (1975), en el cual las poblaciones están usualmente adaptadas a cierto nivel de endogamia y a selección por homocigosidad. En las poblaciones estudiadas, estas características se reflejan en la deficiencia de heterocigotos (D) y en el elevado índice de fijación (F) observados para las especies *G. melanocheir* y *G. venezuelae*. La deficiencia de heterocigotos en *G. valencia* también es elevada en el único locus heterocigo revelado. Este último resultado no es absolutamente concordante con el modelo de Bush, ya que se esperaría que en poblaciones grandes ampliamente distribuidas, el nivel de heterocigosidad promedio sea elevado. En este sentido, es importante resaltar que la población de *G. valencia* estudiada pertenece a los ríos de la cuenca del Lago de Valencia, que tiene la peculiaridad de ser de tipo endorréica, lo cual puede conferirle características genéticas similares a la de poblaciones pequeñas aisladas propuestas en el modelo de especiación alopátrica vicariante.

La relación entre variación genética y su expresión morfológica es muy compleja y representa actualmente un punto controversial, debido a la variedad de patrones que se obtienen al realizar estudios que combinen aspectos del fenotipo y el genotipo. Es muy común encontrar en la literatura ejemplos en los que determinadas especies o grupos de ellas presentan una alta variabilidad mor-

fológica, pero que resultan ser genéticamente indistinguibles; los casos contrarios también han sido ampliamente reportados (Turner, 1974; Mickevich y Johnson, 1976; Gorman y Kim, 1977; Nixon y Taylor, 1977; Larson *et al.*, 1981; Shackle y Tamaru, 1981; Stepien y Rosenblatt, 1991; Strauss, 1991; Kartavtsev, 1992). La información anterior sugiere que los loci que codifican para las proteínas metabólicas evolucionan a tasas diferentes de aquellos que determinan las características morfológicas (Allendorf y Utter, 1979), lo cual destaca la necesidad de combinar análisis genéticos y morfológicos en estudios de especiación.

En el caso que nos ocupa, una idea más clara acerca de la validez del componente genético o morfológico en la explicación de los patrones biogeográficos observados, necesitará de la ampliación de este estudio a poblaciones de otras cuencas, posiblemente más representativas como sería el caso de *G. valencia* para la cuenca del Orinoco, y un análisis más detallado de las especies que se encuentran en simpatria.

## Conclusiones

Los análisis morfométricos intraespecíficos mostraron que únicamente existe segregación morfológica completa entre machos y hembras de *G. melanocheir*. El análisis interespecífico reveló una mayor similitud entre *G. valencia* y *G. venezuelae*, que ambas con respecto a *G. melanocheir*. Las variables que mayormente contribuyen con la variabilidad de la forma corporal detectada entre las tres especies de *Gephyrocharax*, correspondieron a las distancias hocico - istmo - origen aleta pectoral y a las distancias asociadas con la longitud del pedúnculo caudal.

En el aspecto genético, para estas poblaciones se identificaron 11 loci monomórficos e idénticos para las tres especies, 4 polimórficos y 3 loci fijados para diferentes alelos. *G. venezuelae* y *G. melanocheir* resultaron ser más variables que *G. valencia*, presentando esta última el menor valor de heterocigosidad promedio (*H*), con un solo locus polimórfico, contra tres loci en las otras dos especies. Este nivel de variabilidad está condicionado principalmente por el polimorfismo detectado en los loci *EST-1\**, *EST-2\** y *GPI-A\** y en los alelos diferencialmente fijados para los loci *GPI-B\**, *IDH\** y *ME\**; el locus *PGM\**, aunque polimórfico, contribuye en baja medida a la variabilidad observada. Los patrones genéticos indican una diferenciación entre las tres especies estudiadas, según el estadístico  $F_{ST}$ . A este respecto, *G. melano-*

*cheir* y *G. valencia* se diferencian claramente una de la otra, mientras que *G. venezuelae* presenta elementos génicos en común con las dos especies anteriores.

Los patrones genéticos y morfológicos y la distribución de las especies de *Gephyrocharax*, son consistentes con una sucesión de eventos vicariantes que pudieron haber causado el aislamiento de pequeños grupos poblacionales al oeste de Venezuela (*G. venezuelae* y *G. melanocheir* actuales). La mayor parte de la población ancestral permaneció en el curso principal del Orinoco, extendiéndose por gran parte del territorio nacional (*G. valencia* actual). Estos eventos pueden asociarse con el movimiento de la desembocadura del Río Orinoco desde el noroeste del país hacia el este hace 38-5 millones de años, seguido por el levantamiento de la Cordillera de Los Andes hace aproximadamente 11 millones de años.

Una idea más clara acerca de la hipótesis biogeográfica planteada requerirá de la ampliación de este estudio a poblaciones de otras cuencas.

#### AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue cofinanciado por los proyectos CONICIT S1-95000515, 03-31-3451-95 (I Etapa) y CDCH 03-31-3451-99 (II Etapa).

#### REFERENCIAS

- Aebersold PB, Winans GA, Teel DJ, Milner GB, Utter FM (1987) *Manual for starch gel electrophoresis: A method for the detection of genetic variation*. NOAA Technical Report NMFS No. 61. 19 pp.
- Allendorf FW, Utter F (1979) Population genetics. En Hoar WS, Randall DJ, Brett JR (Eds) *Fish Physiology*, vol. VIII. Academic Press. pp. 407-454.
- Allendorf FW, Phelps SR (1981) Use of allelic frequencies to describe population structure. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38: 1507-1514.
- Avise JC, Kitto GB (1973) Phosphoglucose Isomerase gene duplication in bony fishes: An evolutionary history. *Biochemical Genetics* 8: 113-132.
- Avise JC, Selander RK (1972) Evolutionary genetics of cave-dwelling fishes of the genus *Astyanax*. *Evolution* 26: 1-19.
- Bonilla A, López-Rojas H (1997) Sexual dimorphism in *Gephyrocharax venezuelae* (Characidae: Glandulocaudinae) in Venezuela. *Acta Biol. Venez.* 17: 45-49.
- Bookstein F, Chernoff B, Elder R, Humphries J, Smith G, Strauss R (1985) *Morphometrics in evolutionary biology*. Special Publication 15. The Academy of Natural Science of Philadelphia. 277 pp.
- Bush GL (1969) Sympatric host race formation and speciation in frugivorous flies of the genus *Rhagoletis*. *Evolution* 23: 237-251.
- Bush GL (1975) Modes of animal speciation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 6: 339-364.
- Buth DG, Murphy RW (1990) Enzyme staining formulas. En Hillis DM, Moritz C (Eds) *Molecular Systematics*. Sinauer Associates. pp. 99-126.
- Chernoff B, Machado-Allison A (1999) *Bryconops colaraja* and *B. colanegra* two new species (Teleostei, Characidae) from the Cuyuni and Caroni drainages of South America. *Ichth. Explor. Freshwaters* 10: 355-370.
- Chernoff B, Machado-Allison A, Soul W (1991) Redescription and biogeography of *Leporinus brunneus* Myers. *Ichth. Explor. Freshwaters* 1: 295-306.
- Dahl G (1971) *Los peces del norte de Colombia*. Ministerio de Agricultura, Inderena. 391 pp.
- Díaz de Gamero ML (1996) The changing course of the Orinoco river during the Neogene: a review. *PALAEO* 123: 385-402.
- Eigenmann CH (1920) The fishes of Lake Valencia, Caracas and the Rio Tuy at El Concejo, Venezuela. *Indiana University Studies Vol. VII*, No. 44. pp. 1-13.
- Endler JA (1977) *Geographic variation, speciation, and clines*. Monographs in Population Biology No. 10. Princeton University Press. 246 pp.
- Fink W, Machado-Allison A (1992) Three new species of piranhas from Brazil and Venezuela. *Ichth. Explor. Freshwaters* 2: 57-75.
- Fink W, Machado-Allison A (2001) A new species of piranha from Brazil, with comments on *Serrasalmus altuvei* and *Serrasalmus compressus* (Teleostei:Characiformes). *Occas. Papers Museum of Zoology*. Univ. Michigan 730: 1-18.
- Galvis G, Mojica JI, Camargo M (1997) *Los peces del Catatumbo*. Asociación Cravo Norte, Colombia. 118 pp.
- Gorman GC, Kim YJ (1977) Genotypic evolution in the face of phenotypic conservatism: *Abudefduf* (Pomacentridae) from the Atlantic and Pacific sides of Panamá. *Copeia* 1977: 694-697.
- Humphries JM, Bookstein FL, Chernoff B, Smith GR, Elder RL, Poss SG (1981) Multivariate discrimination by shape in relation to size. *Syst. Zool.* 30: 291-308.
- Johnson GB (1973) Enzyme polymorphism and biosystematics: the hypothesis of selective neutrality. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 4: 93-116.
- Kartavtsev YP (1992) Allozyme heterozygosity and morphological homeostasis in pink salmon, *Onchorhynchus gorbuscha* (Walbaum): evidences from family analysis. *J. Fish Biol.* 40: 17-24.
- Koehn RK (1969) Esterase heterogeneity: Dynamics of a polymorphism. *Science* 163: 943-944.
- Koehn RK, Pérez JE, Merritt RB (1971) Esterase enzyme function and genetical structure of populations of the freshwater fish *Notropis stramineus*. *American Naturalist* 105: 51-69.
- Kornfield IL, Koehn RK (1975) Genetic variation and speciation in New World cichlids. *Evolution* 29: 427-437.
- Lande R (1980) Genetic variation and the phenotypic evolution during allopatric speciation. *American Naturalist* 116: 463-479.
- Larson A, Wake DB, Maxson LR, Highton R (1981) A molecular phylogenetic perspective on the origins of morphological novelties in the salamanders of the tribe Plethodontini (Amphibia, Plethodontidae). *Evolution* 35: 405-422.
- Lasso C, Provenzano F (1997) *Chaetostoma vasquezii*, nueva especie de corroncho del Escudo de Guayana, Estado Bolívar, Venezuela (Siluroidei:Loricariidae): descripción y consideraciones biogeográficas. *Mem. Soc. Cienc. Nat. La Salle LVII*: 53-65.
- Lasso C, Machado-Allison A, Pérez R (1991) Consideraciones zoogeográficas de los peces de la Gran Sabana (Alto Caroní) Venezuela, y sus relaciones con las cuencas vecinas. *Mem. Soc. Cienc. Nat. La Salle IL y L*: 109-127.
- Lauder GV (1981) Form and Function: Structural analysis in evolutionary morphology. *Paleobiology* 7: 430-442.
- Lauder GV, Liem KF (1989) The role of historical factors in the evolution of complex organismal functions. En Wake DB, Roth G (Eds) *Complex Organismal Functions: Integration and Evolution in Vertebrates*. John Wiley and Sons. pp. 63-78.
- Leary RF, Booke HE (1990) Starch gel electrophoresis and species distinctions. En Schreck C, Moyle PB (Eds) *Methods for fish biology* American Fisheries Society. USA. pp. 141-170.
- López-Rojas H (1982) *An analysis of the external form of the catfishes (Siluriformes: Teleostei)* PhD Dissertation. Duke University. Durham, NC. USA. 155 pp.
- López-Rojas H (1992) The diagraph: An instrument for the use in three dimensional morphology of fishes. *Acta Biol. Venez.* 13: 117-123.
- López-Rojas H, Marciano-Ch C, Brull O (1996) Los peces del refugio de Fauna Silvestre Cuare (Falcón) y zonas adyacentes. *Acta Biol. Venez.* 16: 27-34.
- Lundberg JG, Machado-Allison A, Kay R (1986) Miocene characid fish from Colombia: Evolutionary stasis and extirpation. *Science* 34: 208-209.
- Lundberg JG, Marshall LG, Guerrero J, Horton B, Malabarba MC, Wesselingh F (1998) The Stage for Neotropical Fish Diversification: A History of Tropical South American Rivers. En Malabarba L, Reis R, Vari R, Lucena ZM, Lucena CA (Eds) *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. EDIPUCRS, Porto Alegre. Brasil. pp: 13-48.
- Machado-Allisson A, Fink W (1991) Notas sobre la sistemática del género *Serrasalmus* y géneros relacionados. Parte II. El género *Pygo-centrus* en Venezuela. *Acta Biol. Venez.* 13: 109-136.
- Machado-Allisson A, Fink W (1996) *Los peces caribes de Venezuela: Diagnósis, claves, aspectos ecológicos y evolutivos*. CDCH-UCV. Caracas, 149 pp.
- Machado-Allisson A, Fink W, Antonio ME (1990) Revisión del género *Serrasalmus* LACEPEDE, 1804 y géneros relacionados en Venezuela: I. Notas sobre la morfología y sistemática de *Pristobrycon striolatus* (STEINDACHNER, 1908). *Acta Biol. Venez.* 12: 140-171.
- Mago-Leccia F (1970) Lista de los peces de Venezuela. Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas. 283 pp.
- May B (1992) Starch gel electrophoresis of allozymes. En Hoelzel AR (Ed) *Molecular genetic analysis of populations. A practical approach*. IRL Press. pp. 1-27.

- Mayr E (1963) *Animal Species and Evolution*. Belknap Press. Cambridge, Mass. USA. 797 pp.
- McKay SI, Miller PJ (1991) Isozyme criteria in the testing of phyletic relationship between species of *Gobius* and related eastern Atlantic-Mediterranean genera (Teleostei: Gobiidae). *J. Fish Biol.* 39: 291-299.
- Mickevich MF, Johnson MS (1976) Congruence between morphological and allozyme data in evolutionary inference and character evolution. *Syst. Zool.* 25: 260-270.
- Nei M (1972) Genetic distances between populations. *The American Naturalist* 106: 283-292.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distances from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Nixon SE, Taylor RJ (1977) Large genetic distances associated with little morphological variation in *Polycelis coronata* and *Dugesia tigrina* (planaria). *Syst. Zool.* 26: 152-164.
- Provenzano F, Lasso C, Ponte V (1995) *Neblinichthys roraima*, a new species of armored catfish (Siluroidei:Loricariidae) from Rio Kukenán, Venezuela with considerations about biogeography of the Guyana Shield. *Ichth. Explor. Freshwaters* 6: 243-254.
- Richardson BJ, Baverstock PR, Adams M (1986) *Allozyme Electrophoresis. A handbook for animal systematics and population studies*. Academic Press. 410 pp.
- Ricklefs RE (1987) Community diversity: Relative roles of local and regional processes. *Science* 325: 167-161.
- Ricklefs RE (1988) Speciation and diversity: Integration of local and regional processes. En Otte J, Endler JA (Eds) *Speciation and its Consequences*. Sinauer, Sunderland, MA. pp: 599-622.
- Rod E (1981) Notes on the shifting course of the ancient Rio Orinoco from late Cretaceous to Oligocene time. *GEOS* 26: 54-56.
- Schaefer A, Provenzano F (1993) The Guayana Shield *Parotocinclus*. Systematics, biogeography, and description of a new Venezuelan species (Siluroidei:Loricariidae). *Ichth. Explor. Freshwaters* 4: 39-56.
- Schultz LP (1944) The fishes of the family Characinidae from Venezuela, with descriptions of seventeen new forms. *Proc. US Natl Mus.* 95: 235-367.
- Shaklee JB, Tamaru CS (1981) Biochemical and morphological evolution of Hawaiian bonefishes (*Albula*). *Syst. Zool.* 30: 125-146.
- Shaklee JB, Allendorf FW, Morizot DC, Whitt GS (1990) Gene nomenclature for protein-coding loci in fish. *Trans. American Fisheries Soc.* 119: 2-15.
- Shaw CR, Prasad R (1970) Starch gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. *Biochemical Genetics* 4: 297-320.
- Stepien CA, Rosenblatt RH (1991) Patterns of gene flow and genetic divergence in the northeastern pacific Clinidae (Teleostei: Blennioidei), based on allozyme and morphological data. *Copeia* 1991: 873-896.
- Strauss RE (1991) Correlations between heterozygosity and phenotypic variability in *Cottus* (Teleostei: Cottidae): Character components. *Evolution* 45: 1950-1956.
- Strauss RE, Bookstein FL (1982) The truss: body form reconstructions in morphometrics. *Syst. Zool.* 31: 113-135.
- Swofford DL, Selander RB (1989) *BIOSYS-1: a Computer Program for the Analysis of Allelic Variation in Population Genetic and Biochemical Systematics, Release 1.7*. Urbana IL: Univ. Illinois Natural History Survey. pp. 43.
- Taphorn DC (1992) The Characiforms Fishes of the Apure River Drainage, Venezuela. *Biollania Edición Especial* No. 4. 537 pp.
- Taphorn DC, Lilyestrom CG (1984) Clave para los peces de agua dulce de Venezuela. *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología* 2: 5-30.
- Triest L (1989) Electrophoretic polymorphism and divergence in *Najas marina* L. (Najadaceae): Molecular markers for individuals, hybrids, cytodemes, lower taxa, ecodemes and conservation of genetic diversity. *Aquatic Botany* 33: 301-380.
- Turner BJ (1974) Genetic divergence of Death Valley pupfish species: Biochemical versus morphological evidence. *Evolution* 28: 281-294.
- Weitzman SH, Burns JR (1995) Glandulocaudine fishes. *Tropical Fish Hobbyist*. XLIV: 102-113.