



**EFFECTO DE LAS TRANSGRESIONES MARINAS  
EN LA ICTIOFAUNA CONTINENTAL: EL CASO  
DEL GÉNERO *SQUALIUS* (ACTINOPTERYGII:  
CYPRINIDAE) (BONAPARTE, 1837) EN EL SUR  
DE LA PENÍNSULA IBÉRICA**

**Autores: Marta Cobo, Silvia Perea e Ignacio Doadrio**

**Presentación: Marta Cobo**

Financiado por: Ministerio de Ciencia e Innovación (CGL2010-15231BOS)

# ÍNDICE

---

- INTRODUCCIÓN
- MATERIAL Y MÉTODOS
- RESULTADOS/DISCUSIÓN
- CONCLUSIONES

# ÍNDICE

---

- INTRODUCCIÓN
- MATERIAL Y MÉTODOS
- RESULTADOS/DISCUSIÓN
- CONCLUSIONES

# PECES DE AGUA DULCE COMO INDICADORES BIOGEOGRÁFICOS

---

## CIPRÍNIDOS

Especialmente adecuados para estudios filogeográficos y biogeográficos

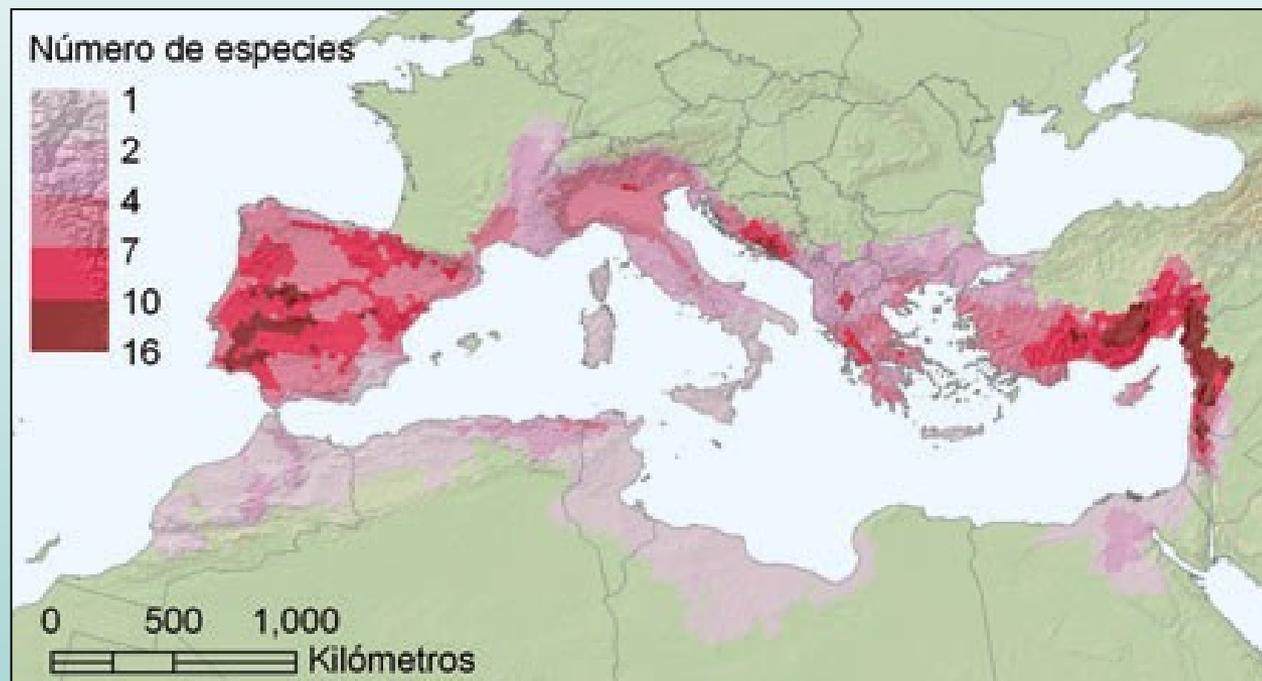


Heterogeneidad de hábitat



Baja capacidad de dispersión

# IMPORTANCIA DE LA CUENCA MEDITERRÁNEA



*Riqueza de especies amenazadas de agua dulce*

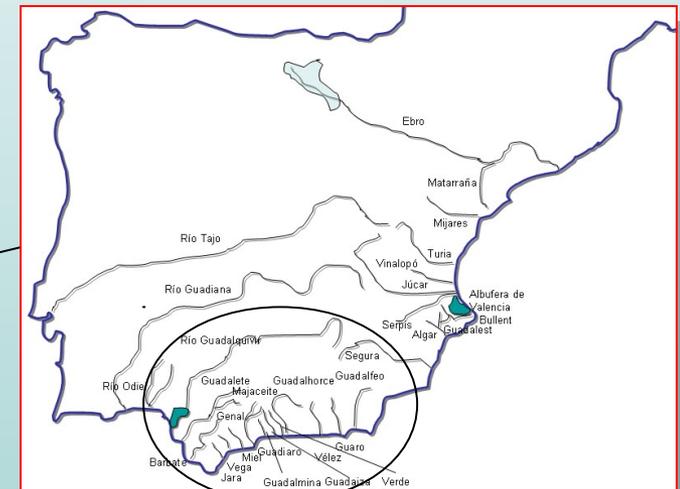


**Peces endémicos  
de agua dulce:**

Amenazados: 56%

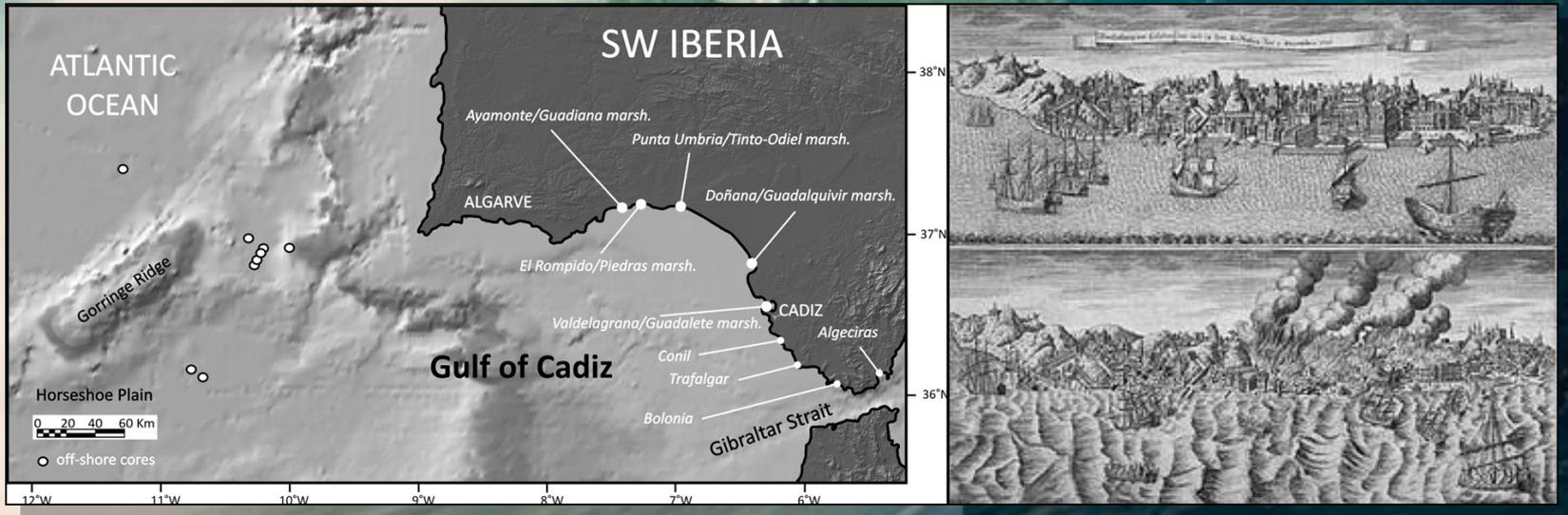
Datos insuficientes:  
16%

## IMPORTANCIA DE LA CUENCA MEDITERRÁNEA



*Extensión de los hielos en el último máximo glacial*

# LOS TSUNAMIS DEL GOLFO DE CÁDIZ



*Localidades del Golfo de Cádiz  
posiblemente afectadas por los tsunamis*

*Evento de Lisboa  
(Cádiz, 1755)*

## HIPÓTESIS

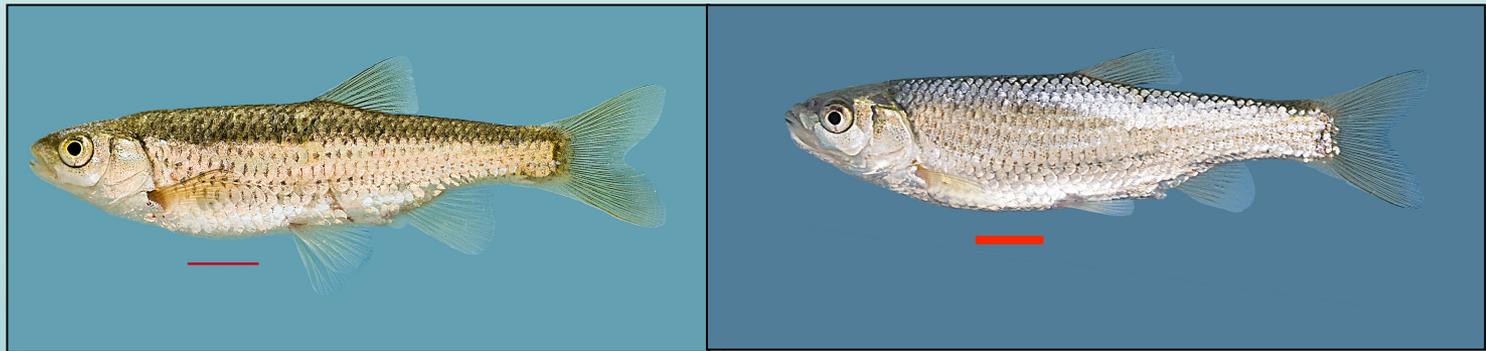
---

- 1. Alta estructura poblacional de las especies estudiadas.
- 2. Baja variabilidad genética intrapoblacional

## OBJETIVO DEL ESTUDIO

---

- Deducir los efectos, tanto paleogeográficos como paleoclimáticos, sobre la genética de poblaciones de dos pequeñas especies de peces de agua dulce endémicas de la Península (el cacho malagueño (*Squalius malacitanus*) y el cacho (*Squalius pyrenaicus*)), con escaso poder de dispersión y distribución limitada al sur de la Península Ibérica.



*Squalius malacitanus* (izquierda). De la localidad tipo. Río Guadalmina, Benahavís, Málaga. *Squalius pyrenaicus* (derecha). Río Guadalete. Puerto Serrano. Cádiz

# IMPLICACIONES EVOLUTIVAS DEL ESTUDIO

---



# ÍNDICE

---

- INTRODUCCIÓN
- MATERIAL Y MÉTODOS
- RESULTADOS/DISCUSIÓN
- CONCLUSIONES

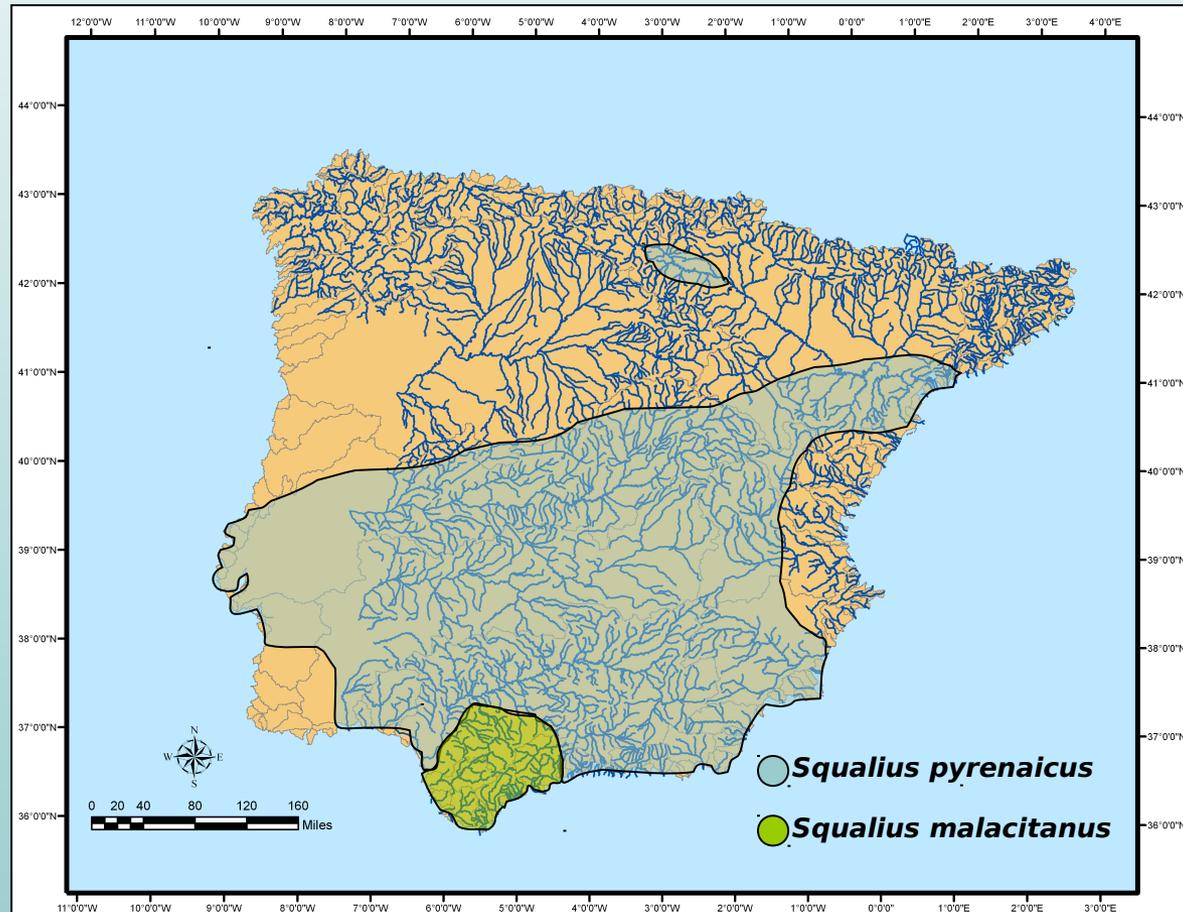
# ÍNDICE

---

- INTRODUCCIÓN
- MATERIAL Y MÉTODOS
- RESULTADOS/DISCUSIÓN
- CONCLUSIONES

# MATERIAL Y MÉTODOS

## ○ Distribución de las especies estudiadas



Distribución de las especies estudiadas, *Squalius malacitanus* y *Squalius pyrenaicus*, en la Península Ibérica.

# MUESTREO Y EXTRACCIÓN DEL ADN



Mapa de las provincias de Málaga y Cádiz, con los 17 ríos de donde se obtuvieron las muestras (316 individuos) y las especies encontradas en cada río.

# AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE PCR



# ANÁLISIS DE LOS DATOS

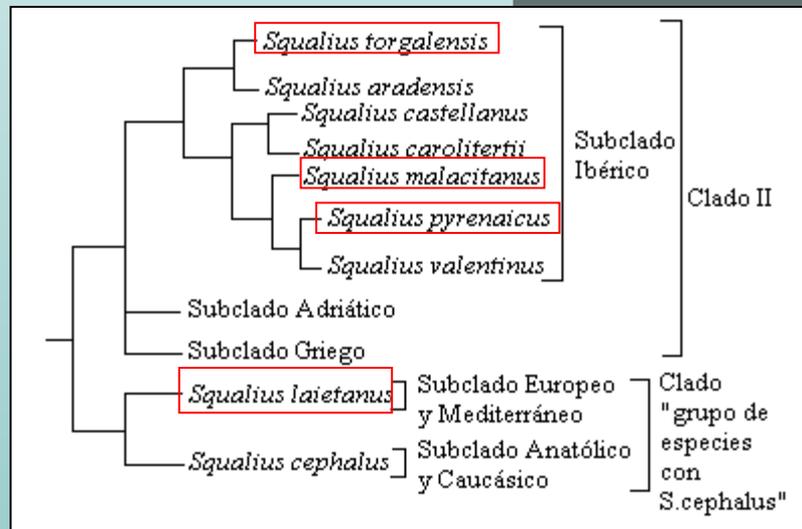
Grupo externo



Bagre  
(*Squalius laietanus*)



Cacho de Torgal  
(*Squalius torgalensis*)



Dentro del género *Squalius*, *S. torgalensis* pertenece al Clado II (donde se encuentran las especies estudiadas), mientras que *S. laietanus* pertenece a otro clado

## ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

---

- Selección del mejor modelo evolutivo
- Máxima Verosimilitud (ML)
- Inferencia Bayesiana (IB)

# DIVERSIDAD GENÉTICA E HISTORIA DEMOGRÁFICA

---

- **Parámetros de diversidad genética**
  - Diversidad haplotípica y nucleotídica.
- **Matrices de distancias genéticas**
  - Tiempo de divergencia
- **Tests de neutralidad:**
  - $F_s$  de Fu,  $R_2$ ,  $D$  de Tajima y  $D^*$  y  $F^*$  de Fu y Li.
- **Análisis mismatch**
- **Tiempo tras la expansión**
  - $t = \tau / 2u$  ;  $u = 2\mu$  ( $\mu$ : tasa de sustitución por linaje)

# ANÁLISIS FILOGEOGRÁFICOS

---

- AMOVA
- Red de haplotipos (TCS)

# ÍNDICE

---

- INTRODUCCIÓN
- MATERIAL Y MÉTODOS
- RESULTADOS/DISCUSIÓN
- CONCLUSIONES

# ÍNDICE

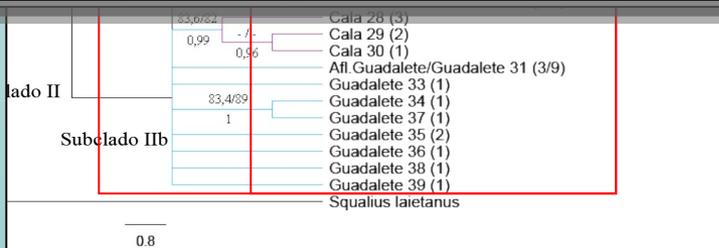
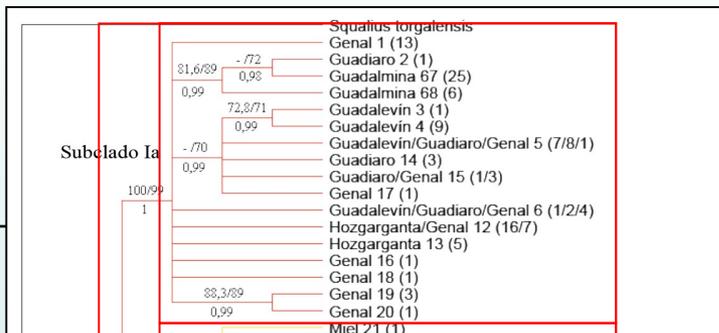
---

- INTRODUCCIÓN
- MATERIAL Y MÉTODOS
- RESULTADOS/DISCUSIÓN
- CONCLUSIONES

# RESULTADOS/ DISCUSIÓN

## ESTUDIO

### FILO ÁRB FILO



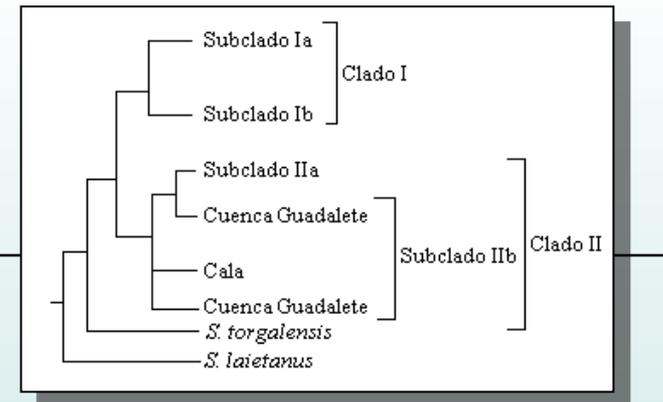
ico  
nálisis  
o el  
+ G. Los  
rap para  
ML  
sobre  
00  
valores  
lidades  
ra el

muestran bajo las  
ramas. Entre  
paréntesis aparece el  
número de individuos  
de cada haplotipo

**ESTUDIO  
FILOGENÉTICO:**

**MATRICES DE  
DISTANCIAS**

Árbol  
filogenético de  
las muestras  
de *Squalius*  
estudiadas

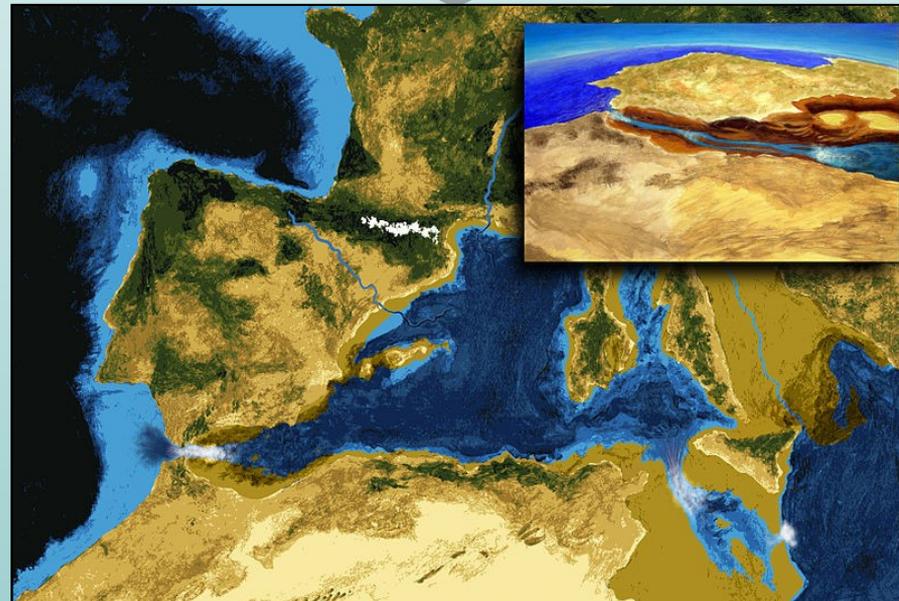
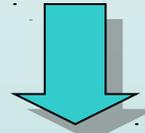


	1	2	3	4
1. SubcladoIa	0,004±0,001	0,006	0,010	0,010
2. SubcladoIb	0,041	0,004±0,001	0,010	0,009
3. SubcladoIIa	0,091	0,087	0,000±0,000	0,002
4. SubcladoIIb	0,086	0,080	0,005	0,004±0,001

**Tabla VII.** Distancias genéticas entre los subclados de las especies estudiadas obtenidos a partir del análisis filogenético

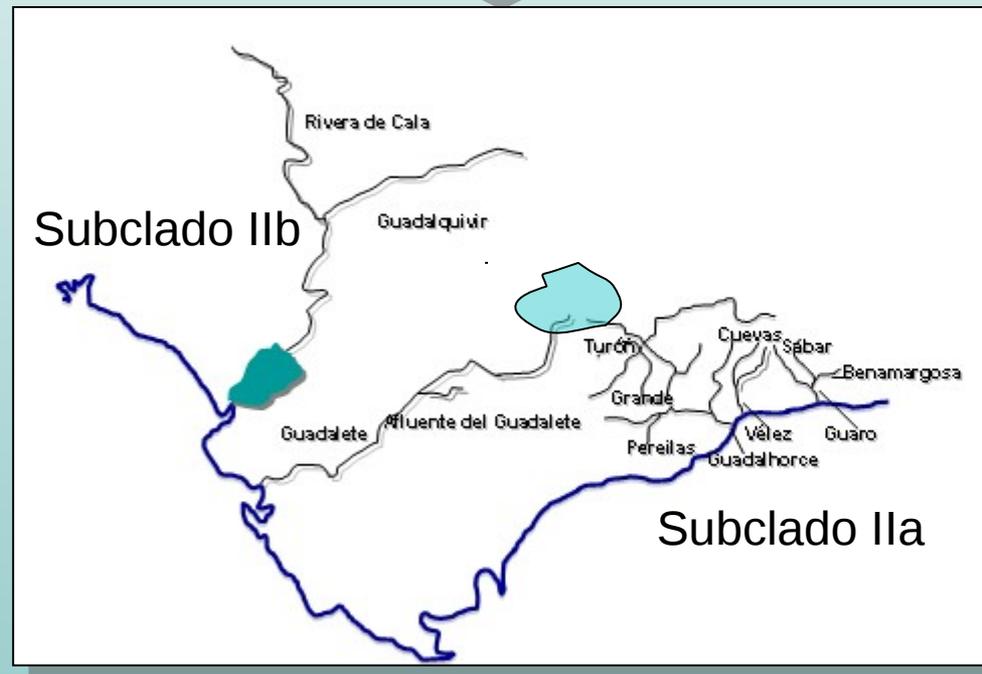
0,8% de distancia genética →  
tiempo de divergencia: 1m.a.  
(Perea *et al.*, 2010).

- ***Squalius malacitanus***: Separación de ambos subclados hace 5 m. a. → Apertura del Estrecho de Gibraltar (hace 5,3 m. a.).



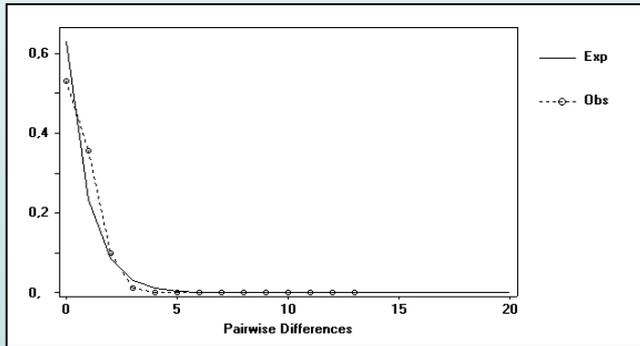
Apertura del Estrecho de Gibraltar: fin de la crisis salina (5,3 m.a.)

- ***Squalius pyrenaicus***: separación de ambos subclados, hace menos de 620.000 años → obedece a eventos Pleistocénicos.



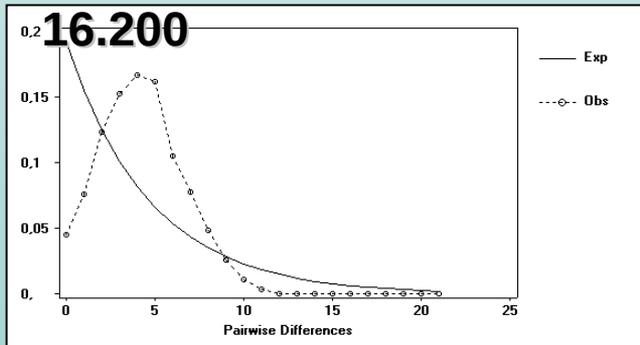
# DEMOGRAFÍA Y TIEMPO DE DIVERGENCIA

Expansión reciente apoyada por tests de neutralidad y mismatch

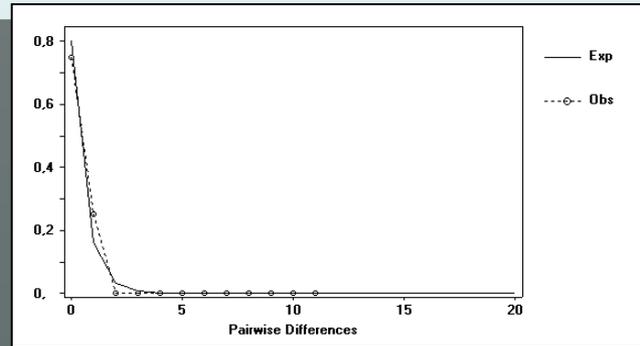


Río Grande  $\rightarrow t =$

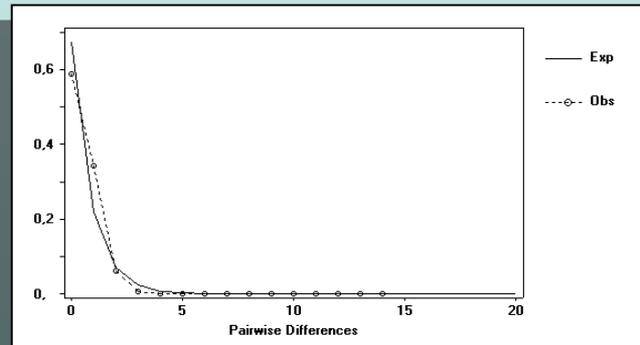
**16.200**



Subclado Ib  $\rightarrow t = 86.759$

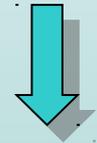


Río Pereilas  $\rightarrow t = 6.853$



Subclado IIa  $\rightarrow t = 13.377$

Anterior a los tsunamis



Variaciones en el nivel del mar debidas a eventos glaciales

# RESULTADOS/DISCUSIÓN

## DIVERSIDAD HAPLOTÍPICA Y NUCLEOTÍDICA

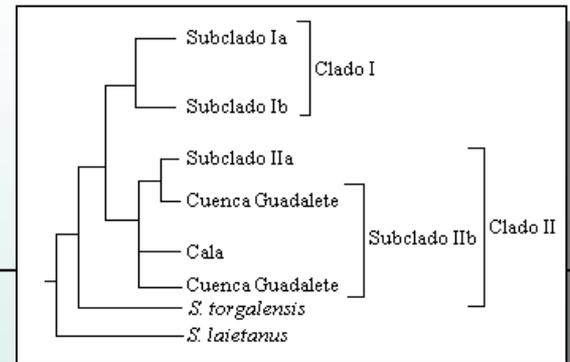
**Tabla II.**  
Diversidad genética del citocromo b mitocondrial en distintas poblaciones del género *Squalius* de las provincias de Málaga y Cádiz (España)

Población	<i>n</i>	<i>h</i>	<i>S</i>	<i>H<sub>d</sub></i>	DE de <i>H<sub>d</sub></i>	<i>k</i>	$\pi$	DE de $\pi$
<i>S. malacitanus</i> (Clado I)	178	46	93	0,942	0,00800	23,249	0,02093	0,000950
SubcladoIa	120	17	30	0,882	0,01300	4,266	0,00376	0,000190
Cuenca del río Guadiaro	89	15	30	0,865	0,01900	3,867	0,00339	0,000240
Guadiaro	15	5	11	0,695	0,10900	2,514	0,00221	0,000800
Hozgarganta	21	2	1	0,381	0,10100	0,381	0,00033	0,000090
Genal	35	10	23	0,813	0,04800	3,671	0,00323	0,000620
Guadalevín	18	4	6	0,627	0,07300	1,078	0,00095	0,000350
Cuenca del río Guadalmina								
Guadalmina	31	2	1	0,323	0,08800	0,323	0,00028	0,000080
SubcladoIb	58	29	38	0,955	0,01300	4,215	0,00371	0,000270
Cuenca del río Barbate								
Celemín	24	16	23	0,946	0,03100	3,435	0,00302	0,000510
Cuenca del río Jara								
Jara	16	7	8	0,792	0,08900	1,792	0,00157	0,000290
Cuenca del río Vega								
Vega	6	3	5	0,600	0,21500	1,667	0,00147	0,000750
Cuenca del río Miel								
Miel	12	6	9	0,758	0,12200	2,227	0,00196	0,000540
<i>S. pyrenaicus</i> (Clado II)	138	22	29	0,641	0,04500	3,472	0,00306	0,000340
SubcladoIIa	108	11	9	0,413	0,05800	0,488	0,00043	0,000070
Cuenca del Guadalhorce	57	8	7	0,348	0,08100	0,412	0,00036	0,000100
Grande	26	6	5	0,468	0,11800	0,591	0,00052	0,000160
Pereilas	8	2	1	0,250	0,18000	0,25	0,00022	0,000160
Turón	23	2	1	0,237	0,10500	0,237	0,00021	0,000090
Cuenca del río Vélez								
Cuevas	30	2	1	0,287	0,09200	0,287	0,00025	0,000080
Cuenca del río Guaro								
Sabar	19	4	2	0,614	0,07500	0,713	0,00063	0,000110
SubcladoIIb	32	12	19	0,827	0,05400	4,357	0,00384	0,000530
Cuenca del río Guadalquivir								
Cala	6	3	2	0,733	0,15500	1,133	0,00100	0,000220
Cuenca del río Guadalete	26	9	15	0,748	0,07400	3,852	0,00339	0,000590
Afl.Guadalete	4	2	8	0,500	0,26500	4	0,00353	0,001860
Guadalete	22	9	15	0,797	0,07000	4	0,00352	0,000640
<i>Total</i>	316	68	160	0,913	0,01100	51,38	0,04734	0,000290
<i>n</i> , número de individuos; <i>h</i> , número de haplotipos; <i>S</i> , número de sitios polimórficos; <i>H<sub>d</sub></i> = diversidad haplotípica; <i>k</i> = número medio de sitios polimórficos; $\pi$ , diversidad nucleotídica.								

**ANÁLISIS  
FILOGEOGRÁFICOS:**

**AMOVA**

Árbol  
filogenético de  
las muestras  
de *Squalius*  
estudiadas



**Tabla III.**  
Resultados del AMOVA entre todas las poblaciones, las dos especies estudiadas, los cuatro subclados obtenidos en el análisis filogenético y entre las poblaciones de cada uno de los subclados por separado

Origen de la variación	d.f.	SSD	Componentes de la varianza	P	% total de varianza
<i>S.malacitanus</i> y <i>S.pyrenaicus</i>					
Entre especies	1	5796,925	37,23983 Va	0	83,59
Dentro de las especies	314	2295,388	7,31015 Vb	0	16,41
Subclados Ia, Ib, Iia y Iib					
Entre clados	3	7625,76	34,48738 Va	0	95,84
Dentro de los clados	312	466,554	1,49536 Vb	0	4,16
Todas las poblaciones					
Entre poblaciones	16	7852,855	26,75377 Va	0	97,09
Dentro de las poblaciones	299	239,458	0,80086 Vb	0	2,91
<i>Squalius malacitanus</i> (Clado I)					
Entre poblaciones	8	1890,393	12,18655 Va	0	92,49
Dentro de las poblaciones	169	167,169	0,98917 Vb	0	7,51
Subclado Ia					
Entre poblaciones	4	156,002	1,63150 Va	0	65,73
Dentro de las poblaciones	115	97,815	0,85056 Vb	0	34,27
Subclado Ib					
Entre poblaciones	3	50,767	1,15688 Va	0	47,39
Dentro de las poblaciones	54	69,354	1,28434 Vb	0	52,61
<i>Squalius pyrenaicus</i> (Clado II)					
Entre poblaciones	7	165,537	1,39610 Va	0	71,52
Dentro de las poblaciones	130	72,289	0,55607 Vb	0	28,48
SubcladoIia					
Entre poblaciones	4	3,629	0,03384 Va	0	13,74
Dentro de las poblaciones	101	21,456	0,21244 Vb	0	86,26
SubcladoIib					
Entre poblaciones	2	16,698	0,86506 Va	0	33,04
Dentro de las poblaciones	29	50,833	1,75287 Vb	0	66,96

d.f. (grados de libertad); SSD (Media de la desviación estándar).

○ **F<sub>ST</sub>:**

	1	2
1. <i>Squalius malacitanus</i>	0,83529	0,00000±0,0000
2. <i>Squalius pyrenaicus</i>	0,83591	0,83672

**Tabla III.** Valor de  $F_{ST}$  entre los dos clados obtenidos en el análisis filogenético (bajo la diagonal) dentro de los clados (en la diagonal) y p-valor (en rojo).

	1	2	3	4
1. Subclado Ia	0,95820	0,00000±0,0000	0,00000±0,0000	0,00000±0,0000
2. Subclado Ib	0,91007	0,95821	0,00000±0,0000	0,00000±0,0000
3. Subclado IIa	0,97230	0,97904	0,95892	0,00000±0,0000
4. Subclado IIb	0,95091	0,94789	0,81193	0,95820

**Tabla IV.** Valores de  $F_{ST}$  entre los distintos subclados obtenidos en el análisis filogenético para las especies estudiadas (bajo la diagonal), dentro de los subclados (en la diagonal) y p-valores (en rojo)

## RESULTADOS/DISCUSIÓN

### ○ $F_{ST}$ :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1.C.Guadiaro	0,96413	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.C.Vélez	0,96691	0,96641	0,01802=0,0121	0	0	0	0	0	0	0	0
3.C.Guaro	0,96311	0,11130	0,96616	0	0	0	0	0	0	0	0
4.C.Miel	0,92121	0,99037	0,98497	0,96528	0	0	0	0	0	0	0
5.C.Guadalhorce	0,97173	0,06660	0,26565	0,99162	0,96633	0	0	0	0	0	0
6.C.Guadalquivir	0,95717	0,95781	0,92161	0,97710	0,95189	0,96598	0	0	0	0	0
7.C.Guadalete	0,95546	0,74572	0,69549	0,95869	0,79429	0,47252	0,96421	0	0	0	0
8.C.Jara	0,92650	0,99077	0,98617	0,59227	0,99184	0,98048	0,96270	0,96551	0	0	0
9.C.Vega	0,92298	0,99434	0,98941	0,64293	0,99403	0,98327	0,95797	0,29094	0,96570	0	0
10.C.Barbate	0,91830	0,98039	0,97398	0,32660	0,98477	0,96363	0,95511	0,47235	0,50170	0,96447	0
11.C.Guadalmína	0,53141	0,99668	0,99490	0,98248	0,99584	0,99504	0,97844	0,98356	0,98955	0,96492	0,96639

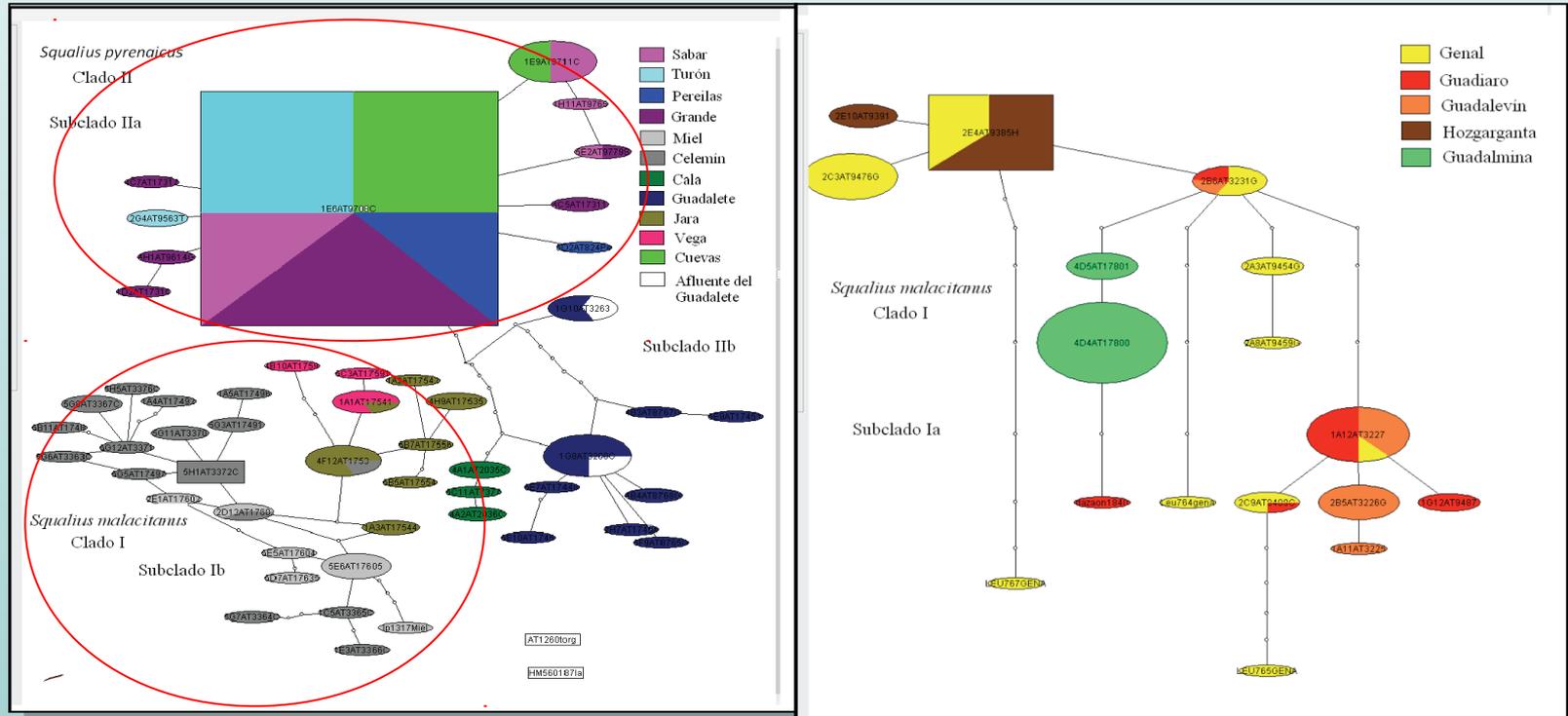
**Tabla V.** Valores de  $F_{ST}$  entre las distintas cuencas fluviales de las especies estudiadas (bajo la diagonal) dentro de ellas (en la diagonal) y p-valores (en rojo).

## RESULTADOS/DISCUSIÓN

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1.Guadalevin	0,9715	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.Cuevas	0,9935	0,9722	0	0,02±0,01	0	0	0	0	0,14±0,02	0	0	0	0	0	0	0	0
3.Turón	0,9933	0,1152	0,9723	0	0	0	0	0	0,37±0,04	0	0	0	0,02±0,01	0	0	0	0
4.Sabar	0,9901	0,1113	0,2802	0,9718	0	0	0	0	0,04±0,02	0	0	0	0	0	0	0	0
5.Hozgarganta	0,8748	0,9963	0,9965	0,9939	0,9721	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6.Guadiaro	0,1710	0,9886	0,9874	0,9832	0,7397	0,9701	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7.Genal	0,5425	0,9764	0,9740	0,9705	0,1263	0,3954	0,9688	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8.Miel	0,9678	0,9904	0,9894	0,9850	0,9765	0,9496	0,9284	0,9704	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9.Pereilas	0,9907	0,0705	0,0491	0,2068	0,9961	0,9804	0,9658	0,983	0,9723	0	0	0	0,57± 0,05	0	0	0	0
10.Cala	0,9874	0,9578	0,9586	0,9216	0,9937	0,9751	0,9614	0,9771	0,9376	0,9715	0,009± 0,009	0	0	0	0,009± 0,009	0	0
11.Afl.Guadalete	0,9824	0,8954	0,8872	0,8232	0,9899	0,9679	0,9573	0,9676	0,7927	0,5678	0,9694	0,99± 0,003	0	0	0,009±0,009	0	0
12.Guadalete	0,9692	0,7562	0,7331	0,7016	0,974	0,9609	0,9563	0,9583	0,6435	0,4686	-0,1579	0,9685	0	0	0	0	0
13.Grande	0,9912	0,0778	0,0519	0,2139	0,9944	0,9856	0,9735	0,9872	-0,0057	0,9319	0,8493	0,7266	0,9719	0	0	0	0
14.Jara	0,9713	0,9908	0,99	0,9862	0,9786	0,9563	0,9355	0,5923	0,9851	0,9805	0,9736	0,9627	0,9879	0,9708	0	0	0
15.Vega	0,9754	0,9943	0,9942	0,9894	0,9861	0,9534	0,9293	0,6429	0,9903	0,9833	0,9691	0,9572	0,9911	0,2909	0,9711	0	0
16.Celemín	0,9490	0,9804	0,9781	0,974	0,9547	0,9349	0,9222	0,3266	0,9689	0,9636	0,9569	0,9545	0,9771	0,4724	0,5017	0,9691	0
17.Guadalmina	0,9161	0,9967	0,9969	0,9949	0,9144	0,8263	0,6018	0,9825	0,9966	0,9950	0,9926	0,9794	0,9951	0,9836	0,9896	0,9649	0,9722

**Tabla VI.** Valores  $F_{ST}$  entre las poblaciones de las especies estudiadas (*S. malacitanus* y *S. pyrenaicus*) (bajo la diagonal), dentro de las poblaciones (en la diagonal) y p-valores (en rojo).

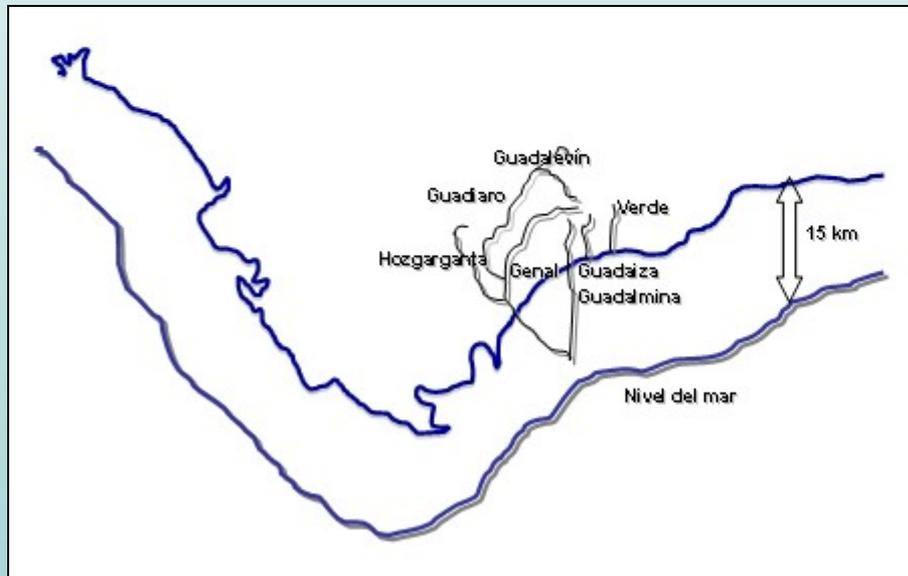
# ANÁLISIS FILOGEOGRÁFICOS: RED DE HAPLOTIPOS



Red de haplotipos mediante métodos de parsimonia realizada a partir del programa TCS.

## ESTUDIO FILOGEOGRÁFICO

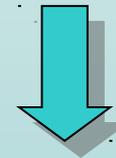
- ***Squalius malacitanus***:
  - **Subclado Ia**:



Último máximo glacial → Hace 20.000 años



Extinciones → Durante los últimos 20.000 años



El estudio demográfico no muestra ningún evento de expansión poblacional

## ○ Subclado Ib:

- Historia común → Asociada a la formación de la **Laguna de la Janda.**

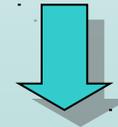


*Laguna de la Janda*

15.000 BP – 3800 BP → Estuario

-Diversidad genética alta.

-Gráficos mismatch no reflejan expansión.



No existe efecto de los tsunamis.

**Posible explicación:**

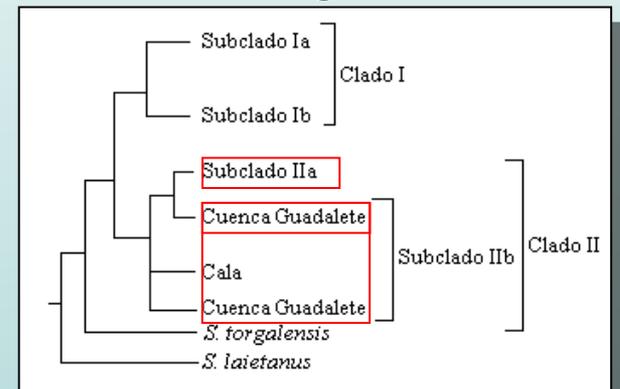
Conexión de los ríos mediante la laguna de la Janda.

## ○ *Squalius pyrenaicus*

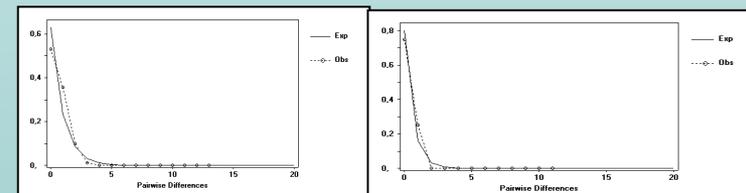
- **Subclado IIa** (poblaciones mediterráneas):
  - **Diversidad genética:** baja.
    - Explicación: Efecto fundador



### Análisis filogenético



### Análisis demográfico



Río Grande

Río Pereilas

# ÍNDICE

---

- INTRODUCCIÓN
- MATERIAL Y MÉTODOS
- RESULTADOS/DISCUSIÓN
- CONCLUSIONES

# ÍNDICE

---

- INTRODUCCIÓN
- MATERIAL Y MÉTODOS
- RESULTADOS/DISCUSIÓN
- CONCLUSIONES

# CONCLUSIONES

---

- ***Squalius malacitanus:***
  - Dividida en dos subclados separados hace 5 m.a., probablemente por la fragmentación del Estrecho de Gibraltar.
  - **Subclado Ib:** Diversidad genética alta por conexiones pasadas de las cuencas mediante la Laguna de la Janda, minimizando los efectos de eventos como los tsunamis.
  - **Subclado Ia:** No se ha conseguido probar que la ausencia de la especie en todas las cuencas de pequeño tamaño, excepto en el río Guadalmina, se deba a extinciones por eventos catastróficos como los tsunamis.
- ***Squalius pyrenaicus:***
  - Dividida en dos subclados separados hace 620.000 años, probablemente por **efecto fundador.**

---

**GRACIAS POR SU ATENCIÓN**