

Variabilidad genética local del bivalvo dulceacuícola *Diplodon chilensis* (Gray 1828) proveniente de tres lagos Nahuelbutanos

Local genetic variability of the freshwater bivalve *Diplodon chilensis* (Gray 1828) from three Nahuelbuta lakes.

CARMEN FUENTEALBA^{1*}, RICARDO FIGUEROA^{2,3}, FIDELINA GONZÁLEZ⁴ & MARIO PALMA⁴

¹ Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

² Unidad de Sistemas Acuáticos, Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

³ Centro de Estudios Patagónicos, CIEP, Francisco Bilbao 449, Coyhaique, Chile.

⁴ Laboratorio de Genética. Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

*E-mail: cfuentea@udec.cl

ABSTRACT

Genetic variability of a freshwater bivalve *Diplodon chilensis* from three Nahuelbuta lakes was described. Each lake shows geographic barriers and environmental characteristics as a consequence of geomorphologic and anthropic events. Our results shows that only Lleu-Lleu lake was in Hardy-Weinberg equilibrium ($P < 0.05$). All populations show gametic disequilibrium ($P < 0.001$), as an evidence of the species' life cycle. There are heterozygote deficiencies (*Fis*) in Laguna La Posada and Laguna Chica de San Pedro. Global *Fst* (0.027) and AMOVA test values for pooling subpopulation show non structured population, as an evidence of recent migration process.

KEYWORDS: *Diplodon chilensis*, linkage disequilibrium, heterozygote deficit, Hardy-Weinberg equilibrium, lentic systems.

RESUMEN

Se describe la variabilidad genética del bivalvo dulceacuícola *Diplodon chilensis* proveniente de tres lagos Nahuelbutanos, cada uno de los cuales presenta barreras geográficas y diferencias ambientales reconocibles como consecuencia de diversos eventos geomorfológicos y antrópicos. Nuestros resultados revelaron que sólo Lago Lleu-Lleu se encuentra de equilibrio Hardy-Weinberg ($P < 0.05$). El desequilibrio gamético se manifestó en las tres poblaciones $p < 0.001$ lo que podría explicarse por la complejidad de su ciclo reproductivo. La Posada y Laguna Chica de San Pedro presentan déficit de heterocigotos (*Fis*). Los valores de *Fst* global (0.027) y AMOVA para la población total indican que estas poblaciones no están estructuradas lo que sugiere procesos de migración recientes a través de los cursos de agua.

PALABRAS CLAVE: *Diplodon chilensis*, desequilibrio gamético, déficit de heterocigotos, equilibrio Hardy-Weinberg, sistemas lénticos.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha surgido un notable interés a nivel mundial por el estudio de las poblaciones de bivalvos dulceacuícolas (Nagel *et al.* 1996; Berg *et al.* 1998, 2007; Hoeh *et al.* 1998; Brim Box & Mossa 1999; Parada & Peredo 2002; Baker *et al.* 2004). Diversos autores han reconocido su potencial rol trófico en el ecosistema (Bauer, 2001; Strayer *et al.* 2004), regulando los niveles de turbidez de la columna de agua, (Leff *et al.* 1990; Vallejos 1996; Soto & Mena 1999; Strayer 1999; Vaughn & Hakenkamp 2001). Además, por

su eficiente capacidad de filtración (Valdovinos & Cuevas 1996; Kreeger *et al.* 2004; Fuentealba & Henríquez 2008), los bivalvos dulceacuícolas son considerados una importante herramienta de mejoramiento y control en la calidad de agua (Lara *et al.* 2002; Kreeger *et al.* 2004).

En Chile, se han registrado extinciones locales en algunas poblaciones de bivalvos dulceacuícolas (Parada & Peredo 2005; Valdovinos & Pedreros 2007) así como en otras latitudes (Ricciardi & Rasmussen 1999; Anthony *et al.* 2001), que podrían tener relación con el grado de perturbación

del hábitat (Williams *et al.* 1992; Layzer *et al.* 1993; Brim Box & Mossa 1999; Peredo *et al.* 2003). Diversos autores han destacado la estrecha relación existente entre el estado trófico de un lago, las condiciones geomorfológicas y usos de la cuenca de drenaje (Ryding & Rast 1992; Parra *et al.* 2003; Valdovinos & Pedreros 2007). La materia y energía procedente de estas cuencas influye directa e indirectamente en las poblaciones de bivalvos y su hábitat (Chutter, 1969; Valdovinos & Figueroa 2000). La interacción de estos factores con fenómenos estocásticos o determinísticos es crucial en el establecimiento de la variabilidad genética. Eventualmente, el nivel de perturbación de hábitat puede generar pérdida de la diversidad genética derivando en una reducción drástica del tamaño poblacional inclusive, ocasionar la disminución en la frecuencia alélica en la población (White *et al.* 1999; Ferreira de Souza *et al.* 2009).

En los últimos años, en Chile, diversos estudios del tipo ecológico y sistemático se han centrado en la familia Hyriidae y la especie *Diplodon chilensis* (Gray 1828), sin embargo, actualmente no existen estudios genéticos poblacionales al respecto (Bonetto *et al.* 1986; Parada *et al.* 1987; Lara *et al.* 1988; Soto & Mena 1999; Jara *et al.* 2000; Lara *et al.* 2002; Parada & Peredo 2005). A nivel taxonómico, se han descrito para género *Diplodon* dos especies, *Diplodon chilensis* y *Diplodon solidulus* Philippi 1869. Para la especie *D. chilensis* existirían dos subespecies *D. chilensis chilensis* y *D. chilensis patagonicus* (d'Orbigny 1846). La primera se distribuye desde Valparaíso hasta la Isla de Chiloé y la segunda desde la región más austral de Chile y la Patagonia argentina, con un límite meridional argentino en el lago Futalauquén existiendo registros ambiguos del holotipo para la subespecie *D. chilensis patagonicus* (Letelier 2006) lo cual ha puesto en duda su presencia en territorio chileno (Parada & Peredo 2008).

La historia evolutiva de los bivalvos dulceacuícolas en Chile, al igual que otros invertebrados dulceacuícolas, en los últimos diez mil años ha sido de colonización, aislamiento y adaptación. Los cambios climáticos durante la formación de los ecosistemas dulceacuícolas, sumado a procesos del tipo morfogenéticos (glaciación, vulcanismo o actividad tectónica) conllevaron a la formación de nuevos hábitats cada uno con características particulares (Parada *et al.* 1989; Parada & Peredo 1994; Clapperton 1993; Turner *et al.* 2005; Ruzzante *et al.* 2008). Estos factores habrían determinado la colonización de la especie en una gran variedad de hábitats como ríos y lagos modificando sus patrones de distribución y fenotípicos (Parada & Peredo 1994; Parada & Peredo 2002). Desde el punto de vista genético, las poblaciones lólicas a diferencia de las lénticas, mantendrían un mayor nivel de flujo génico como consecuencia del grado de conectividad hídrica. Sin embargo, poblaciones lénticas y lólicas en respuesta a las presiones de selección de cada ambiente en

particular, presentan importantes diferencias fenotípicas (plasticidad fenotípica), posibilitando que los adultos se adapten exitosamente a amplios rangos del ambiente (Parada & Peredo 1994). Para ambos ecosistemas las presiones de selección corresponderían fundamentalmente a la modificación de parámetros fisicoquímicos tales como vientos regionales, temperatura, pH, oxígeno disuelto y corrientes (Parada & Peredo 1994). Sin embargo, existe evidencia de tolerancia de las poblaciones *D. chilensis* a distintos rangos de temperatura, como ha sido demostrado en el tiempo geológico, períodos en los cuales las poblaciones no fueron afectadas por los extremos de temperatura producidos en el Pleistoceno y Holoceno (Jackson & Jackson 2008).

En el hábitat natural, la distribución de los individuos en la población tiende a ser en bajas densidades. Se alimentan de fitoplancton y bacterias en hábitats con elevada productividad (Vallejos 1996). No obstante, las poblaciones sólo pueden vivir en condiciones mesotróficas a oligotróficas. La modificación de parámetros como la tasa de sedimentación y remoción del fondo, han demostrado ser factores claves en la declinación paulatina de las poblaciones de bivalvos (Bauer 1988; Williams *et al.* 1992; Layzer *et al.* 1993; Parada & Peredo 1994; Wood & Armitage 1997; Brim Box & Mossa 1999; Dodds & Whiles 2004). Estudios demuestran que *Diplodon chilensis* es susceptible a los procesos de eutroficación disminuyendo notablemente su rango de distribución. Cambios en los niveles de trofia y en los parámetros geográficos de los ecosistemas afectan notablemente la tasa de crecimiento, incluso actualmente, es considerada una especie en peligro (Valdovinos & Pedreros 2007). Probablemente de igual modo son afectados los niveles de variabilidad genética y estructura poblacional por lo que es prioritario conocer la diversidad genética poblacional hasta ahora desconocida.

El propósito del presente trabajo es determinar la variabilidad genética en poblaciones de *Diplodon chilensis* mediante análisis del polimorfismo de isoenzimas. Las poblaciones en estudio fueron recolectadas de tres sistemas lénticos cada uno de los cuales presenta barreras geográficas, sin conexión física entre lagos, y diferencias ambientales reconocibles como consecuencia de diversos eventos geomorfológicos y antrópicos, por lo que se postula la hipótesis de diferenciación en los niveles de variabilidad genética y una marcada estructuración poblacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras fueron colectadas desde 3 sistemas lénticos, lago Lleu-Lleu, laguna La Posada y Laguna Chica de San Pedro, denominados lagos Nahuelbutanos,

los cuales se encuentran emplazados en la fachada occidental de la cordillera de Nahuelbuta (VIII región Chile). Adicionalmente se incluyó el Lago Lanalhue no encontrándose registros actuales (Fig. 1). Los parámetros fisicoquímicos son mostrados en la Tabla 1.

Se tomaron muestras estacionales de 60 individuos de la especie *Diplodon chilensis*, las que fueron posteriormente transportadas en cautiverio y preservadas a 80°C (Mod: Scien-Temp Adrián Michigan U.S.A). Los organismos fueron descongelados a temperatura ambiente y

posteriormente utilizados de forma gradual en cada análisis evitando de este modo cualquier alteración post-mortem de los complejos enzimáticos. Durante la estandarización previa se utilizaron tejidos tales como: músculo abductor, pie y branquias, los que fueron extraídos posteriormente de los organismos descongelados. Sobre la base de los resultados obtenidos en la etapa de estandarización previa y de los tejidos se hizo una selección de las branquias, resultando con buena resolución en el sistema, evitando de este modo cualquier error en la interpretación de los resultados.

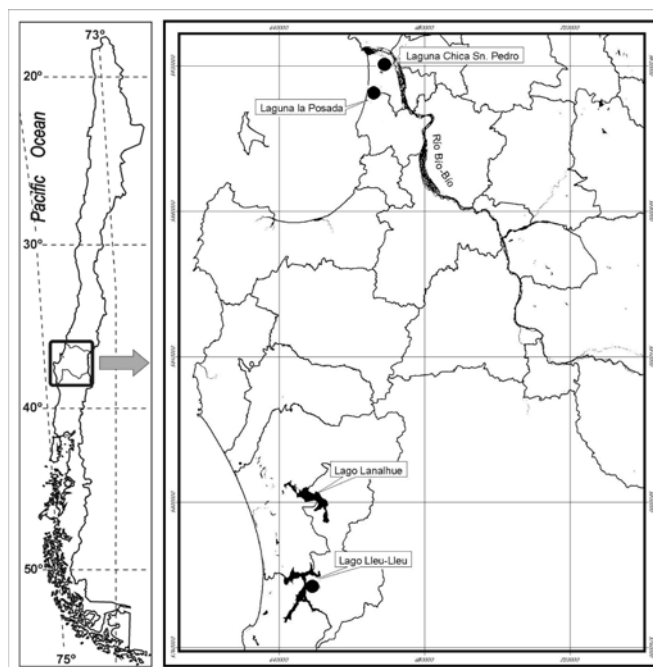


FIGURA 1. Mapa de los sitios de colecta de *Diplodon chilensis*.

FIGURE 1. Collecting sites map of *Diplodon chilensis*.

TABLA 1. Parámetros Fisicoquímicos de los tres lagos nahuelbutanos (Parra *et al.* 2003; Valdovinos & Pedreros 2007).

TABLE 1. Physical and chemical parameters from three nahuelbuta lakes (Parra *et al.* 2003; Valdovinos & Pedreros 2007).

Parámetros Fisicoquímicos	Laguna Chica	Laguna La Posada	Lago Lleu-Lleu	Lago Lanalhue
Temperatura (°C)	17.5	16	15.5	16.8
pH	6.9	7.0	7.5	6.8
Secchi (m)	5.2	2.8	8.0	3.0
Total-P(mg L-1)	4.9	5.2	3.4	13.4
PO4-P (mg L-1)	3.1	2.1	2.0	8.0
DIN (mg L-1)	250.0	163.0	225.0	166.0
Oxígeno disuelto (mg L-1)	9.2	9.2	9.8	9.1
Area (km2)	0.82	0.10	39.80	31.90
Profundidad media	10.3	3.7	23.5	13.1
Latitud	36° 51'	36° 56'	38°09'	37°55'
Longitud	73° 05'	73°10'	73°19'	73°19'
Altitud (m)	5	7	20	12

ELECTROFORÉISIS DE ISOENZIMAS

Se analizaron 7 sistemas enzimáticos, mediante las técnicas de Harris & Hopkinson (1976) Pasteur *et al.* (1988) y Richardson *et al.* (1986). Los tampones utilizados según la metodología propuesta por Harris & Hopkinson (1976) y Selander *et al.* (1971) encuentran resumidos en la Tabla 2. La homogeneización de forma manual se llevó a cabo mediante el uso de un mortero convencional y en el mismo tubo Eppendorff usando una bagueta, con 50-80 mg de ambos tejidos. Se utilizó buffer Tris-EDTA en la maceración en tejidos branquiales, mediante un sistema de trituración manual, las muestras posteriormente fueron centrifugadas. En el caso de los músculos abductores la maceración se hizo con 3 a 5 gotas de agua destilada cuando era preciso hidratar. Los tejidos branquiales fueron centrifugados a 3.000 rpm por 5 min. Los músculos abductores fueron centrifugados a 10.000 rpm por 3 min obteniéndose de esta forma la separación de fases.

La siembra se llevo a cabo en un gel almidón al 12.5%, utilizando papel Whatman N°3 0.5 x 0.8 mm. Para la corrida electroforética se utilizó una fuente de poder modelo Heath Modelo 2717. La corrida o empuje inicial de las proteínas fue de 25 a 36 mA. Al cabo de una hora se retiraron los papeles de siembra y se aumentó el voltaje manteniendo una temperatura de 5°C. El tiempo de corrida estimado fue

aproximadamente de 6 h expuestos a corriente continua. El voltaje se mantuvo constante en un rango de 36 a 50 mA.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de los datos y la obtención de los índices de variabilidad genética, estructuración poblacional, test de equilibrio Hardy- Weinberg utilizamos el programa Popgene (Yeh *et al.* 1997) versión 1.31 y Tools for Population Genetics Analysis (TFPGA) en su versión 1.3 (Miller 1997). Para cada población se obtuvo los estadísticos descriptivos como número de alelos por locus (nivel 95%), heterozigosidad observada (*Ho*), heterozigosidad esperada (*He*), frecuencias alélicas y genotípicas.

Los valores de *Fst* al comparar pares de poblaciones fueron estimados de acuerdo a Cockerham & Weir (1993) usando Arlequin 2.0 (Schneider *et al.* 2000). La significancia fue obtenida usando 1000 permutaciones. Un análisis de varianza molecular (AMOVA, Excoffier *et al.* 1992) fue utilizado para descomponer la varianza genética entre las 3 poblaciones y verificar cómo se distribuye la varianza dentro y entre poblaciones. Los cálculos de AMOVA fueron realizados usando Arlequin 2.0 y el significado de la varianza entre las poblaciones fue testeado usando 10000 permutaciones.

Tabla 2: Tipo de enzimas, tampón, tejidos y autores incluidos en el estudio. (S* Selander *et al.* 1971). (**) B: Branquia.

TABLE 2. Isozyme systems, buffer, issues and authors included in this study. (S* Selander *et al.* 1971). (**) B: Gill.

ENZIMAS	TAMPÓN	pH	AUTOR (*)	Tejido (**)
MALATO DESHIDROGENASA (MDH) 1.1.1.37	TRIS CITRATO	6.3-6.7	S	B
ESTERASA (EST) 3.1.1.1	TRIS CITRATO	6.3-6.7	S	B
ISOCITRATO DESHIDROGENASA (IDH) 1.1.1.2	TRIS CITRATO	6.3-6.7	S	B
FOSFOGLUCOMUTASA (PGM) 2.7.5.1	TRIS CITRATO	6.3-6.7	S	B
GLUCOSA FOSFATO ISOMERASA (PGI) 5.3.1.9	TRIS CITRATO	6.3-6.7	S	B
GLUTAMATO OXALATO TRANSAMINASA (GOT) 2.6.1.1	TRIS CITRATO	6.3-6.7	S	B
LEUCIN AMINOPEPTIDASA (LAP) 3.4.11.1	TRIS CITRATO	6.3-6.7	S	B

RESULTADOS

Del total de loci analizados ocho fueron polimórficos EST-1, EST-2 y EST-3, AAT-1, AAT-2, PGM-1, PGI-1 Lap-1 y dos monomórficos AAT-3 y LAP-2. Las tres poblaciones presentaron valores similares de polimorfismo equivalentes a un 80%.

Todos los loci polimórficos en cada población presentaron igual número de alelos ($n=2$), no se encontraron alelos privados o exclusivos por localidad. Con respecto al equilibrio de Hardy-Weinberg por locus, este se manifiesta en distintos niveles, con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), siendo mayor en la Laguna Chica de San Pedro (Pop-1) con un (88%), Laguna la Posada (Pop-3) un (25%), en tanto que en la Lago Lleu-Lleu (Pop-2) no se evidenciaron loci en desequilibrio. Los valores *Fis* globales revelan que Pop-1 ($f=0.479$; $P=0.000$) y la Pop-3 ($f=0.1500$; $P=0.000$) presentan deficiencia de heterocigotos significativa a diferencia de la Pop-3 ($f=0.060$; $P=0.8386$) (Tabla 3).

El estadístico *Fst* global, calculado desde las frecuencias de alelos por loci, es un poco menor (0,0274; $P=0.017$) al obtenido de las frecuencias de los fenotipos multilocus (0.064, $P < 0.001$) de acuerdo a estos valores las tres poblaciones son significativamente diferentes ($0.044 < Fst < 0.095$, $P < 0.001$) con bajo a moderado nivel de estructuración poblacional existiendo un bajo porcentaje de la varianza genética dentro de las poblaciones, como consecuencia de la diferencia entre ellas. El análisis de varianza, AMOVA, complementa los resultados obtenidos del análisis de *Fst* entre pares de poblaciones corroborando que mayoritariamente la varianza se encuentra distribuida dentro de las poblaciones (97,1 %) mientras que sólo el (2,9 %) de la varianza se encuentra entre las poblaciones (Tabla 4).

El análisis desequilibrio gamético de genotipos multilocus, con corrección de Bonferroni, es significativo $P < 0.001$ para todos los loci indicando que no existe asociación aleatoria de los genotipos para cada par de loci analizados (Tablas 4 y 5).

TABLE 3. Valores de frecuencias alélicas, equilibrio Hardy-Weinberg, heterozigosidad observada (*Ho*), heterozigosidad esperada (*He*), probabilidad de equilibrio de Hardy-Weinberg en la población (*P(HW)*) y deficiencia de heterocigotos (*Fis*) en tres sistemas lacustres Nahuelbutanos.

TABLE 3. Values of allele frequencies, Hardy-Weinberg equilibrium, observed heterozygosity (*Ho*), expected heterozygosity (*He*), probability of population Hardy-Weinberg equilibrium *P(HW)* and heterozygous deficit (*Fis*) found in three Nahuelbuta lake systems.

Isoenzimas	Locus	Sistemas lacustres Nahuelbutanos		
		L. Chica de San Pedro	Lago Lleu-Lleu	L. La Posada
Esterasa 1	1	0.600	583	0.5167
	2	0.400	0.4167	0.4833
	H esp	0.4800	0.4861	0.4994
	H. obs	0.3667	0.5333	0.3667
	Fis	0.244	-0.089	0.274
	<i>P(HW)</i>	0.05803	0.49162	0.033630
Esterasa 2	1	0.6750	0.6083	0.5417
	2	0.3250	0.3917	0.4583
	H esp	0.4387	0.4765	0.4965
	H. obs	0.1833	0.4833	0.1167
	Fis	0.588	-0.006	0.768
	<i>P(HW)</i>	0.0000	0.963651	0.0000
EST-3	1	0.600	0.5417	0.4833
	2	0.400	0.4583	0.5167
	H esp	0.4800	0.4965	0.4994
	H. obs	0.2667	0.4833	0.4667
	Fis	0.451	0.035	0.074
	<i>P(HW)</i>	0.000447	0.786413	0.566320
AAT-1	1	0.5833	0.4750	0.4583

Sistemas lacustres Nahuelbutanos				
Isoenzimas	Locus	L. Chica de San Pedro	Lago Lleu-Lleu	L. La Posada
LAP	2	0.4167	0.5250	0.5417
	H esp	0.4861	0.4988	0.4965
	H. obs	0.2333	0.4833	0.4833
	Fis	0.526	0.039	0.035
	P(HW)	0.000042	0.760710	0.786413
	Fis	0.320	0.194	0.041
	P(HW)	0.012178	0.132931	0.748041
	1	0.7667	0.5417	0.5833
	2	0.2333	0.4583	0.4167
	H esp	0.3578	0.4965	0.4861
	H. obs	0.2000	0.4833	0.4667
PGM	Fis	0.448	0.035	0.048
	P(HW)	0.000457	0.786413	0.707566
	1	0.7667	0.5417	0.4833
	2	0.2333	0.4583	0.5167
	H. n.b	0.3608	0.5007	0.5036
	H. obs	0.1333	0.4500	0.5333
	Fis	0.632	0.102	-0.059
PGI	P(HW)	0.019822	0.428909	0.645142
	1	0.5917	0.5250	0.5583
	2	0.4083	0.4750	0.4417
	H esp	0.4832	0.4988	0.4932
	H. obs	0.1833	0.4167	0.4833
	Fis	0.626 0	0.1730	0.028
Promedio	P(HW)	0.0000	0.18024	0.825850
	H. esp.	0.4278	0.4926	0.4963
	H. obs	0.2249	0.4666	0.4225
	Fis	0.4793	0.0601	0.1500

Tabla 4. Comparación pareada entre poblaciones. Sobre diagonal valores-*P* (valor-*P* estimado bajo 1000 permutaciones) y bajo diagonal se muestran valores de *Fst*.

TABLE 4. Pair-wise *Fst* between populations. Above diagonal *P*-value (*P*-values estimated from 1000 permutations). Below diagonal *Fst* values are shown.

	Valor- <i>P</i>			
	Lagos	L. Chica	L. Lleu-Lleu	L. La Posada
Valores de <i>Fst</i> en poblaciones	L. Chica	—	0,04	0,02
	L. Lleu-Lleu	0,04	—	0,45
	L. La Posada	0,05	0	—

Tabla 5: AMOVA calculada para las tres poblaciones. Global F_{st} entre poblaciones, calculados para un valor de AMOVA = 0.029 ($P = 0.017$, significancia estimada a partir de 10000 permutaciones).

TABLE 5. AMOVA performed on the three populations. Global F_{st} between populations estimated from the AMOVA = 0.029 ($P = 0.017$, significance estimated from 10000 permutatons).

Fuente de variación	df	Suma de cuadrados	Componentes de la Varianza	Porcentaje de variación
Dentro poblaciones	2	17,57	0,057	2,92
Entre poblaciones	357	680,07	1,905	97,08

DISCUSIÓN

EQUILIBRIO HARDY WEINBERG, DEFICIT HETEROZIGOTOS Y DESEQUILIBRIO GAMETICO.

La electroforesis de proteínas, marcadores relativamente conservados, ha sido utilizada preliminarmente y como referencia para estimar la variación existente en poblaciones naturales de bivalvos dulceacuícolas, permitiendo hacer inferencias sobre aspectos poblacionales (van der Bank 1995; Nagel *et al.* 1996; Mulvey *et al.* 1997; Berg *et al.* 1998, 2007; Hoeh *et al.* 1998; Curole *et al.* 2004; Elderkin *et al.* 2006). También aspectos relacionados con la función metabólica y la adecuación biológica (Brokordt *et al.* 2000 a,b).

Respecto al desequilibrio de Hardy-Weinberg, los datos sugieren que algún factor importante ha influido drásticamente sobre la Laguna Chica para provocar esta desviación significativa en relación a las poblaciones restantes. Casos de desequilibrio de Hardy-Weinberg relativo al déficit de heterocigotos, han sido reportados como una situación frecuente en bivalvos marinos (Saavedra *et al.* 1993; Gallardo *et al.* 1998, Laudien *et al.* 2003; Zouros & Foltz 1984; Gaffney *et al.* 1990; Bierne *et al.* 1998). También se ha registrado en bivalvos dulceacuícolas (Hoeh *et al.* 1998; Berg *et al.* 1998, 2007; Johnson *et al.* 1998; Elderkin *et al.* 2006). Este déficit ha sido atribuido a diversos factores tanto en poblaciones dulceacuícolas como marinas, entre ellos la presencia de alelos nulos (Foltz 1986), endogamia, reproducción no aleatoria, selección y efecto Wahlund (Gaffney *et al.* 1990; Bierne *et al.* 1998). Al analizar la deficiencia de heterocigotos por cuenca encontrado en laguna Chica y laguna La Posada, los resultados obtenidos permiten sugerir como factores causales la endogamia y procesos reproductivos no aleatorios. Experiencias previas en bivalvos dulceacuícolas de la familia Unionidae (*Utterbackia*), han atribuido este déficit a las estrategias reproductivas, encontrándose, diferencias en los valores obtenidos para poblaciones hermafroditas y gonocóricas (Hoeh *et al.* 1998).

Respecto al desequilibrio gamético en invertebrados dulceacuícolas, este ha sido escasamente documentado. Estudios realizados en la ameba dulceacuícola, *Naegleria* revelaron vía electroforesis, valores significativos de desequilibrio gamético, los cuales permitieron concluir relevantes aspectos sobre su modo de reproducción (Pernin & Cariou 1997). Los resultados revelaron desequilibrio en las tres poblaciones de *Diplodon*, es posible que este grupo presente un modo de reproducción alternativo, hermafroditismo facultativo y autofecundación. Esta complejidad en las estrategias reproductivas no es excluyente, puesto que todavía se desconocen detalles de su modo de reproducción, la mayoría de los estudios se han centrado fundamentalmente en aspectos anatómicos de los gloquidios (González, 1998). Estudios a nivel cromosómico realizados por Peredo *et al.* (2003) en *Diplodon chilensis*, revelaron cierto grado de hermafroditismo. A nivel de familia se ha descrito hermafroditismo en los hyriidos (Hebling & Pentead 1974, Avelar & Mendonca 1998). En *Paxyodon syrmatophorus* se ha encontrado hermafroditismo en baja proporción (Beasley *et al.* 2000). Las hembras de *Hyridella depressa* conservarían tejido gonadal masculino durante su vida, lo que se denomina microhermafroditismo (Byrne 1998). Excepcionalmente, existen especies que conservan el desarrollo directo, situación descrita para *Diplodon charruanus* d'Orbigny 1835 (Bonetto *et al.* 1986).

ESTRUCTURACIÓN POBLACIONAL VERSUS ECOLOGIA DE LA ESPECIE

En paisajes fragmentados con baja conectividad el flujo genético entre las subpoblaciones tiende a disminuir y la deriva génica aumenta (Mech & Hallett 2001), estructurando poblaciones de hábito sedentario. En la mayoría de los bivalvos dulceacuícolas e invertebrados en general los niveles de estructuración poblacional son determinados por su capacidad de dispersión (Bilton *et al.* 2001). Además de la habilidad para sortear condiciones adversas durante los estadios larvales, siendo este uno de los caracteres más relevantes desde el punto de vista de la evolución del grupo (Berg *et al.* 1998, 2007; Bilton *et al.* 2001). Un caso emblemático respecto a su gran capacidad de dispersión es

Lampsilis siliquoidea, bivalvo dulceacuícola de la familia Unionidae cuyo hospedador puede recorrer distancias que varían entre 6,5 y 75 km (Lyons & Kanehl 2002).

Los valores obtenidos en este estudio, revelan un elevado flujo génico entre los sistemas lacustres estudiados. El índice de fijación de Wright ($F_{st}=0.0274$) y AMOVA indican que no hay estructuración entre las poblaciones, tratándose de una sola gran población que se mantiene homogénea donde la varianza genética se distribuye dentro de las poblaciones.

En los bivalvos dulceacuícolas es frecuente la migración a grandes distancias *via foresis* (Walker *et al.* 2001). Esta migración entre sistemas lacustres estaría mediada por peces, los cuales son hospedadores de larvas gloquidios (Viozzi & Brugni 2001). Adicionalmente la dispersión por aves migratorias no es un fenómeno excluyente. Se ha postulado como agente dispersor a las aves de la especie *Podiceps mayor*, la cual se asienta temporalmente en los humedales aledaños a estos lagos costeros (Lara *et al.* 1988). Respecto a la intervención antrópica no se excluye como factor dispersor adicional, situación que ha sido documentada en los trabajos de Lara *et al.* (1988), relacionada al consumo humano: existen registros arqueológicos que revelan el hallazgo de valvas de *Diplodon* en asentamientos indígenas, desde el Pleistoceno en Chile (Sánchez & Inostroza 1985).

IMPLICANCIAS EVOLUTIVAS Y CONSERVACIÓN

Bajo la perspectiva de la genética de poblaciones la diversidad ha sido considerada un factor clave en la conservación, minimizando el riesgo de extinción (Saccheri *et al.* 1998) y favoreciendo el potencial evolutivo de las especies (Spielman *et al.* 2004). La pérdida de diversidad genética reduce la habilidad de las poblaciones para sortear los cambios ambientales. (Frankham *et al.* 1999, Frankham *et al.* 2002). Si existe compromiso de la aptitud reproductiva como consecuencia de la pérdida de diversidad genética (heterozigocidad), el riesgo de extinción es inminente (Saccheri *et al.* 1998, Newman & Pilson 1997, Bijlsma *et al.* 1999, Reed *et al.* 2002).

En general los valores de diversidad alélica fueron bajos e idénticos para las tres poblaciones estudiadas. Los valores de diversidad podrían ser explicados desde el punto de vista evolutivo, como consecuencia de procesos de recolonización generados por una cadena de eventos postglaciales y tectónicos pleistocénicos, los cuales modificaron los ecosistemas acuáticos locales (Mardones & Jaque 1996). Al igual que los sucesos postglaciales ocurridos en Norteamérica, cuyos efectos fueron evaluados en el bivalvo dulceacuícola *Amblema applicata*, el cual se caracterizó por bajos niveles de diversidad genética (Elderkin *et al.* 2006).

Un posible evento de recolonización posterior desde los hábitats de refugio pudo reducir los niveles de diversidad genética de *Diplodon*, como consecuencia del efecto fundador. Esta hipótesis puede estar sustentada en su paleo-distribución, en cuanto a la secuencia temporal este se encontraría desde finales del Pleistoceno (12.500 años A.P.) en un sitio de Monte Verde (Dillehay 1997) hasta el Holoceno tardío en sitios de Chile central.

Antecedentes respecto a los efectos de las glaciaciones pleistocénicas en los ecosistemas dulceacuícolas de Chile, revelan impactos significativos en el caudal, obstrucción en los sistemas de drenajes, modificación en sus parámetros fisicoquímicos y fragmentación continental (Clapperton 1993; Turner *et al.* 1996). Históricamente el origen de estos sistemas lacustres se remonta al Pleistoceno. En relación al origen de la Laguna Chica y La Posada ambas se emplazan en antiguos valles de la Cordillera de la Costa y cuyos drenajes fueron bloqueados por dunas y cordones litorales ocurridos en la última transgresión marina durante Pleistoceno Superior (Mardones & Jaque 1996). Los valores de diversidad genética (heterozigocidad observada y esperada) son mayores en el Lago La Posada que en el Lago San Pedro, contrario a lo esperado, ya que por su origen común deberían presentar niveles similares. También esto es válido para el Índice de endogamia (F_{is}), que es el doble en Lago San Pedro, indicando una fuerte endogamia, en relación a La Posada. Respecto al lago Lanalhue y Lleu-Lleu su origen es común (tectónico) derivado del solevantamiento de las terrazas costeras de la plataforma de Arauco. El sistema de drenaje del lago Lleu-Lleu fue obstruido en el Pleistoceno Reciente, por las formaciones rocosas, debido a las periódicas crisis sísmicas. Los valores de diversidad genética en el Lago Lleu-Lleu son semejantes a los de La Posada, con un índice de endogamia mucho menor (Tabla 3), indicando que los valores de variabilidad genética no pueden ser atribuidos al origen geológico de los cuerpos de agua, sino que a efectos antrópicos.

Así, desde el punto de vista de intervención antrópica, a diferencia de los otros dos sistemas lacustres, Laguna Chica de San Pedro y Lago Lanalhue son los más impactados. Respecto a la primera, esta ha evolucionado desde tiempos prehispánicos a la actualidad desde una condición oligotrófica a una mesotrófica (Parra *et al.* 2003). El Lago Lanalhue actualmente presenta un gran deterioro en la calidad del agua siendo catalogada como eutrófica, fundamentalmente por la influencia de áreas urbanas y remoción paulatina del bosque nativo (Parra *et al.* 2003). En este lago se ha encontrado evidencias de una fuerte declinación de la población de *Diplodon*, en la actualidad es difícil encontrar poblaciones de esta especie (Valdovinos, *com.pers.*).

Los estudios realizados por Cisternas *et al.* (2000) revelan drásticas transformaciones en el uso de suelo y un incremento en la tasa de sedimentación, como consecuencia del reemplazo de la vegetación de estas cuencas. Existe evidencia en otras latitudes, que revelan el impacto negativo causado por niveles excesivos de sedimentos sobre poblaciones de bivalvos dulceacuicolas, causando su declinación paulatina (Neves & Widlak 1988, Leff *et al.* 1990). El estado actual de *Diplodon chilensis* en el Lago Lanalhue es terminal, la disminución de su rango geográfico en sistemas lacustres, es consecuencia de factores que han sido relacionados directamente con los procesos de eutroficación (Valdovinos & Pedreros 2007).

Experiencias demostradas mediante isoenzimas en bagres de la especie *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus 1766), revelaron como causal de origen los factores antrópicos en la pérdida de diversidad genética (Gallo & Díaz-Sarmiento 2003). Estos factores relacionados con la sobreexplotación, produjo una importante declinación de la especie y deterioro de la cuenca, siendo un factor determinante en los niveles de variación. Estos eventos ya han sido previamente reconocidos como precursor de la pérdida de variabilidad genética (Reeves *et al.* 1995).

La declinación paulatina de la familia Hyriidae no ha sido debidamente considerada, sin embargo, se menciona por primera vez en los trabajos de Parada & Peredo (2005). Estos autores reconocen la acción antrópica como principal causal de la fragmentación de hábitat y de la calidad de agua, afectando la estructura poblacional en *Diplodon*.

Sobre la base de los resultados obtenidos a nivel genético poblacional en *Diplodon chilensis*, se concluye que los factores antrópicos son los que determinan la variabilidad genética. Las estrategias de conservación de las poblaciones de *Diplodon chilensis* deben estar dirigidas al manejo de los cuerpos lacustres, especialmente en el Lago Lanalhue y Laguna Chica de San Pedro. Adicionalmente, se propone el uso de marcadores complementarios que permitan profundizar en el conocimiento de la diversidad genética de la población y comprender la dinámica de las estrategias de reproducción usadas por *Diplodon chilensis* en respuesta a cambios ambientales de corto plazo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los revisores de este manuscrito, especialmente al Dr. Sylvain Faugeron y al Dr. Nicolas Gouin por el impulso inicial al trabajo. Este trabajo fue financiado con aportes del Proyecto DIC- U de C 206.031.085-1.0; 97.031.075-1.0. Grupo de Investigación Genética de Poblaciones Vegetales y Animales 03.C1.01.

BIBLIOGRAFÍA

- ANTHONY, J.L., KESLER, D.H., DOWNING, W.L. & DOWNING, J.A. 2001. Length-specific growth rates in freshwater mussels (Bivalvia: Unionidae): extreme longevity or generalized growth cessation? *Freshwater Biology* 46:1349-1359.
- AVELAR, W.E.P. & DE MENDONÇA, S.H.S.T. 1998. Aspects of gametogenesis of *Diplodon rotundus gratus* (Wagner, 1827) (Bivalvia: Hyriidae). *American Malacological Bulletin* 14: 157-163.
- BAUER, G. 1988. Threats to the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* in central Europe. *Biological Conservation* 45 (4): 239-253.
- BAUER, G. 2001. Factors affecting naiad occurrence and abundance. Pages 155-162 in G. Bauer and K. Wächtler (editors). *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*. Ecological Studies Vol. 145. Springer-Verlag, Berlin.
- BAKER, A.M., SHELDON, F., SOMERVILLE, J., WALKER, K.F. & HUGHES, J.M. 2004. Mitochondrial DNA phylogenetic structuring suggests similarity between two morphologically plastic genera of Australian freshwater mussels (Unionida: Hyriidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32:902-912.
- BEASLEY, C. R., TURY, E., VALE, W. G. & TAGLIARO, C. H. 2000. Reproductive cycle, management and conservation of *Paxyodon syrmatophorus* (Bivalvia: Hyriidae) from the Tocantins river, Brazil. *Journal Molluscan Studies* 66: 393-402.
- BERG, D.J., CANTONWINE, E.G., HOEH, W.R. & GUTTMAN, S.I. 1998. Genetic structure of *Quadrula quadrula* (Bivalvia: Unionidae): little variation across large distances. *Journal of Shellfish Research* 17:1365-1373.
- BERG, D. J., CHRISTIAN, A.D. & GUTTMAN, S.I. 2007. Population genetic structure of three freshwater mussel (Unionidae) species within a small stream system: significant variation at local spatial scales. *Freshwater Biology* 52:1427-1439.
- BIERNE, N., LAUNEY, S., NACIRI-GRAVEN, Y. & BONHOMME, F. 1998. Early effect of inbreeding as revealed by microsatellite analyses on *Ostrea edulis* larvae. *Genetics* 148:1893-1906.
- BILTON, D.T., FREELAND, J.R. & OKAMURA, B. 2001. Dispersal in freshwater invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32:159-181.
- BIJLSMA, R., BUNDGAARD, J. & VAN PUTTEN, W. F. 1999. Environmental dependence of inbreeding depression and purging in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology* 12: 1125-1137.
- BRIM BOX, B.J. & MOSSA, J. 1999. Sediments, land use and freshwater mussels: Prospects and problems. *Journal of the North American Benthological Society* 18:99-117.
- BROKORDT, K.B., HIMMELMAN, J.H. & GUDERLEY, H.E. 2000a. Effect of reproduction on escape responses and muscle metabolic capacities in the scallop *Chlamys islandica* Muller 1776. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 251:205-225.
- BROKORDT, K.B., HIMMELMAN, J.H. & GUDERLEY, H.E. 2000 b. Reproductive investment reduces recuperation from exhaustive escape activity in the tropical scallop *Euvola zizac*. *Marine Biology* 137:857-865.

- BONETTO, A., TASSARA, M. P. & RUMMI, A. 1986. Australis n. subgen. of *Diplodon Spix* (Bivalvia, Unionacea) and its possible relationships with Australian Hyriidae. Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción 57: 55-61.
- BYRNE, M. 1998. Reproduction of river and lake populations of *Hyridella depressa* (Unionacea:Hyriidae) in New South Wales: implications for their conservation. Hydrobiologia 389: 29-43.
- CISTERNAS, M., TORRES L., URRUTIA R., ARANEDA, A. & PARRA, O. 2000. Comparación ambiental mediante registros sedimentarios entre las condiciones prehispánicas y actuales de un sistema lacustre. Revista Chilena de Historia Natural 73:151-162.
- CHUTTER, F.M. 1969. The effect of silt and sand on the invertebrate fauna of streams and rivers. Hydrobiologia 34: 57-76.
- CLAPPERTON, C.M. 1993. Quaternary geology and geomorphology of South America. Elsevier, Amsterdam. 779 pp.
- COCKERHAM, C. C. & WEIR, B.S. 1993. Estimation of gene flow from F-statistics. Evolution 47: 855-863.
- CUROLE, J.P., FOLTZ, D.W. & BROWN, K. M. 2004. Extensive allozyme monomorphism in a threatened species of freshwater mussel, *Margaritifera hembeli* Conrad (Bivalvia: Margaritiferidae). Conservation Genetics 5: 271-278.
- DILLEHAY, T. 1997. Monte Verde: A Late Pleistocene Settlement in Chile. Vol.2; The Archaeological Context. Smithsonian Institution Press, Washington D.C.
- DODDS, W.K. & WHILES, M.R. 2004. Quality and quantity of suspended particles in rivers: Continent-scale patterns in the United States. Environmental Management 33:355-367.
- ELDERKIN, C.L., CHRISTIAN, A.D., VAUGHN, C.C., METCALFE-SMITH, J.L. & BERG, D.J. 2006. Population genetics of the freshwater mussel, *Amblema plicata* (Say 1817) (Bivalvia: Unionidae): evidence of high dispersal and post-glacial colonization. Conservation Genetics 8:355-372.
- EXCOFFIER, L., SMOUSE, P. E. & QUATTRO, J. M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics 131:479-491.
- FERREIRA DE SOUZA, M.I., SALGUEIRO, F., CARNAVALE-BOTTINO, M., FELIX, D.B., ALVES-FERREIRA, M., BITTENCOURT, J.V. & MARGIS, R. 2009. Patterns of genetic diversity in southern and southeastern *Araucaria angustifolia* (Bert.). O. Kuntze relict populations. Genetics and Molecular Biology 32:(3)546-556.
- FOLTZ, D. 1986. Null alleles as possible cause heterozygote deficiency in the oyster *Crassostrea virginica* and other bivalves. Evolution 40 (4): 869-870.
- FRANKHAM, R., LEES, K., MONTGOMERY, M. E., ENGLAND, P. R., LOWE, E. & BRISCOE, D. A. 1999. Do population size bottlenecks reduce evolutionary potential? Animal Conservation. 2: 255-260.
- FRANKHAM, R., BALLOU, J. D. & BRISCOE, D. A. 2002. Introduction to Conservation. Genetics (Cambridge) Univ. Press, Cambridge, U.K.
- FUENTEALBA, C. & HENRIQUEZ, O. 2008. Rol de las poblaciones de *Diplodon (Diplodon) chilensis* Gray 1828 en la Laguna Chica de San Pedro de la Paz. Amici Molluscarum (16): 20-27.
- GAFFNEY, P.M., SCOTT, T.M., KOEHN, R.K. & DIEHL, W.J. 1990. Interrelationships of heterozygosity, growth rate and heterozygote efficiencies in the coot clam, *Mulinia lateralis*. Genetics 124:687-699.
- GALLARDO, M.H., PEÑALOZA, L. & CLASING, E. 1998. Gene flow allozymic population structure in the clam *Venus antique* (King of Broderip), (Bivalvia, Veneriidae), from Southern Chile. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 230, 193-205.
- GALLO, H. & DÍAZ-SARMIENTO, J. 2003. Variabilidad genética del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum*, (Pises: Pimelodidae) en el río Magdalena (Colombia). Revista de la Academia de Ciencias Colombiana 27(105): 599-605
- GONZÁLEZ, M.R. 1998. Larvas de *Diplodon chilensis chilensis* (Gray, 1828): ¿De vida libre o parasitas de peces? Seminario para optar al Título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción. Concepción, Chile.
- HARRIS, H. & HOPKINSON, D.A. 1976. Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics. North Holland Publ. Co., Amsterdam. 283 pp.
- HEBLING, N.J. & PENTEADO, A.M.G. 1974. Anatomia funcional de *Diplodon rotundus gratus* Wagner, 1827 (Mollusca, Bivalvia). Revista Brasileira de Biologia 34: 67-80.
- HOEH, W.R., FRAZER, K.S., NARANJO-GARCÍA, E., BLACK, M.B., BERG, D.J. & GUTTMAN, S.J. 1998. Correlation between matting system and distribution of genetic variation in *Utterbackia* (Bivalvia: Unionidae). Journal Shellfish Research 1:1383-1393.
- JARA-SEGUEL, P., PALMA-ROJAS, C., PARADA, E. & LARA, G. 2000. Quantitative karyotype of *Diplodon chilensis* (Gray 1828) (Bivalvia: Hyriidae). Gayana 64(2):189-193.
- JACKSON, D. & JACKSON, D. 2008. Antecedentes arqueológicos del género *Diplodon* (SPIX, 1827) (Bivalvia, Hyriidae) en Chile. Gayana 72 (2): 188-195.
- JOHNSON, R.L., LIANG, F.G. & FARRIS, J.L. 1998. Genetic diversity among four Amblemini species (Bivalvia: Unionidae) in the Cache and White River, Arkansas. The Southwestern Naturalist 43(3):321-332.
- KREEGER, D., GATENBY, C. & RAKSANY, D. 2004. Beyond biodiversity: the conservation and propagation of native mussel biomass for ecosystem services. Abstract from paper presented at the 2nd Annual Meeting of the Pacific Northwest Native Freshwater Mussel Working Group, April 20, 2004, Vancouver, Washington
- LARA, G., PARADA, E., PEREDO, S., INOSTROZA, J. & MORA, H. 1988. La almeja de agua dulce *Diplodon chilensis* (Gray, 1828), un recurso potencial. Boletín Museo Regional de la Araucanía, Temuco 3:33-40.
- LARA, G., CONTRERAS, A. & ENCINA, F. 2002. La almeja de agua dulce *Diplodon chilensis* (Bivalvia: Hyriidae) potencial biofiltro para disminuir los niveles de coliformes en pozos. Experimento de laboratorio. Gayana Zoología 66(2):113-118.
- LAUDIEN, J., FLINT, N.S., VAN DER BANK, F.H. & BREY, T. 2003. Genetic and morphological variation in four populations of the surf clam *Donax serra* (Rding) from southern African sandy beaches. Biochemical, Systematics and Ecology 31: 751-772.
- LAYZER, J. B., GORDON, M. E. & ANDERSON, R. M. 1993. Mussels: the forgotten fauna of regulated rivers. a case study of

- the Caney Fork River. *Regulated Rivers: Research and Management* 8:63-71.
- LEFF, L.G., Burch, J.L. & McArthur, J.V. 1990. Spatial distribution, seston removal, and potential competitive interactions of the bivalves *Corbicula fluminea* and *Elliptio complanata* in a coastal plain stream. *Freshwater Biology* 24:409-416.
- LETELIER, S. 2006. Distribución geográfica de *Diplodon* (*Diplodon*) *chilensis* (Gray 1828) basado en la colección del Museo de Historia Natural (MNHCL), Santiago de Chile. *Amici Molluscarum: Boletín de la Sociedad Malacológica de Chile* 13-15.
- LYONS, J. & KANEHL, P. 2002. Seasonal movements of small mouth bass in streams. In: *Black bass: Ecology, conservation, and management, symposium 31*. (EDS Philipp DP, Ridgeway MS (eds American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, pp 149-160.
- MARDONES, M. & JAQUE, E. 1996. Geomorfología del valle del río Laja. I Taller Internacional de geoecología de Montaña y desarrollo Sustentable de los Andes del Sur. The United Nations University 271-286.
- MECH, S.G. & HALLETT, J.G. 2001. Evaluating the effectiveness of corridors: a genetic approach. *Conservation Biology* 15:467-474.
- MILLER, MP. 1997. Tools for Population Genetic Analysis. Version 1.3. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff.
- MULVEY, M., LYDEARD, C., PYER, D.L., HICKS, K.M., BRIM-BOX, J., WILLIAMS, J.D. & BUTLER, R.S. 1997. Conservation genetics of North American freshwater mussels *Amblema* and *Megalonaias*. *Conservation Biology* 11:868-878.
- NAGEL, K.O., BADINO, G. & ALESSANDRIA, B. 1996. Population genetics of European Anodontinae (Bivalvia: Unionidae) *Journal of Molluscan Studies* 62:343-357.
- NEVES, R.J. & WIDLACK, J.C. 1988. Occurrence of glochidia in stream drift and on fishes of the upper North Fork Holston River, Virginia American. *Midland Naturalist* 119: 111-120.
- NEWMAN, D. & PILSON, D. 1997. Increased probability of extinction due to decreased genetic effective population size: Experimental populations of *Clarkia pulchella*. *Evolution* 51:354-362.
- PARADA, E. & PEREDO, S. 1994. Un enfoque ecológico evolutivo de las estrategias de historia de vida de los hyriidos chilenos (Molusco: Bivalvia). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* 65: 71-80.
- PARADA, E. & PEREDO, S. 2002. Estado actual e la taxonomía de bivalvos dulceacuicolas chilenos progresos y conflictos. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 691-701.
- PARADA, E. & PEREDO, S. 2005. Relocation as a tool for biodiversity conservation and management lessons from *Diplodon chilensis* (Gray, 1828) (Bivalvia, Hyriidae) *Gayana*. 69(1): 41-47.
- PARADA, E. & PEREDO, S. 2008. *Diplodon patagonicus* (Bivalvia: Hyriidae): to be or not to be. *Gayana* 72(2): 266-267.
- PARADA, E., PEREDO, S. & GALLARDO C. 1987. Esfuerzo reproductivo en *Diplodon chilensis chilensis* (Gray, 1828) (Bivalvia: Hyriidae). Una proposición para su determinación. *Boletín de la Sociedad Biología Concepción* 58:121-126.
- PARADA, E. & PEREDO, S., ANTONIN, F. 1989. Contribución al Conocimiento de los Hyriidae chilenos. *Boletín de la Sociedad Biología Concepción* 60:173-182.
- PARRA, O., VALDOVINOS, C., CISTERNAS, M., HABIT, E. & MARDONES, M. 2003. Caracterización y tendencias tróficas de cinco lagos costeros de Chile Central. *Limnetica* 22(1-2):51-83.
- PASTEUR, N., PASTEUR, G., BONHOMME, F. & BRITTON-DAVIDIAN, J. 1988. *Practical Isozyme Genetics*. John Wiley & Sons Inc., New York. 97-151pp.
- PEREDO, S., JARA - SEGUEL, P. & PALMA-ROJAS, C. 2003. Comparative karyology of lentic and lotic populations of *Diplodon chilensis chilensis* (Bivalvia: Hyriidae). *Veliger* 46: 314-319.
- PERNIN, P. & CARIOU, M.L. 1997. Evidence for clonal structure of natural populations of free-living amoebae of the genus *Naegleria*. *Genetic Research* 69: 173-181.
- REED, D. H., BRISCOE, D. A. & FRANKHAM, R. 2002. Inbreeding and extinction: The effect of environmental stress and lineage. *Conservation Genetics* 3: 301-307.
- REEVES, G. H., BRENDA, L. E., BURNETT, K. M., BISSON, P. A. & SEDELL, J. R. 1995. A disturbance-based ecosystem approach to maintaining and restoring freshwater habitats of evolutionary significant units of Anadromous Salmonids in the Pacific Northwest. En: *Evolution and the Aquatic Ecosystem, Defining Unique Units in Population Conservation* (Eds. Nielsen, J. & D. Powers) American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. 17:334-349.
- RICCIARDI, A. & RASMUSSEN, J.B. 1999. Extinction rates of North American freshwater fauna. *Conservation Biology* 13:1220-1222.
- RICHARDSON, BG, BAVERSTOCK, P.R. & ADAMS, M. 1986. *Allozyme Electrophoresis*. Academic Press.
- RUZZANTE, D.E., WALDE, S.J., GOSSE, J.C., CUSSAC, V.E., HABIT, E., ZEMLAK, T.S. & ADAMS, E.D.M. 2008. Climate Control on Ancestral Population Dynamics: Insight from Patagonian Fish Phylogeography. *Molecular Ecology* 17: 2234 - 2244.
- RYDING, S. O. & Rast, W. 1992. El control de la eutrofización en lagos y pantanos UNESCO & Pirámide Madrid.
- SAAVEDRA, C., ZAPATA, C., GUERRA, A. & ÁLVAREZ, G. 1993. Allozyme variation in european populations of the oyster *Ostrea edulis*. *Marine Biology* 115: 85-95.
- SACCHERI, I., KUUSSAARI, M., KANKARE, M., VIKMAN, P., FORTELIUS, W. & HANSKI, I. 1998. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature* 392: 491-494.
- SÁNCHEZ, M. & INOSTROZA, J. I. 1985. Excavaciones arqueológicas en el Alero Quino1. *Boletín del Museo Regional de La Araucanía (Temuco)* 2:53-62.
- SELANDER, R.K., SMITH, M.H., YANG, S.Y., JOHNSON W.E. & GENTRY, J.B. 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. 1. Variation in the old field mouse (*Peromyscus polionotus*). *Studies in Genetics VI*. University of Texas Publications, 7103, 49-90.
- SCHNEIDER, S., ROESSLI, D. & EXCOFFIER, L. 2000. Arlequin ver. 2000: A software for population genetic data analysis. *Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva*. Geneva, Switzerland.
- SOTO, D. & MENA, G. 1999. Filter feeding by freshwater mussel. *Diplodon chilensis* as a biocontrol of salmon farming eutrophication. *Aquaculture* 171: 65-81
- SPIELMAN, D., Brook, B.W. & FRANKHAM, R. 2004. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact

- them. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101: 15261–15264.
- STRAYER, D. L. 1999. Statistical power of presence-absence data to detect population declines. *Conservation Biology* 13:1034-1038.
- STRAYER, D.L., DOWNING, J.A., HAAG, W.R., KING, T.L., LAYZER, J.B., NEWTON, T.J. & NICHOLS, S.J. 2004. Changing perspectives on pearly mussels, North America's most imperiled animals. *Bioscience* 54, 429–439.
- TURNER, T.F., TREXLER, J.C., KUHN, D.N. & ROBINSON, H.W. 1996. Life history variation and comparative phylogeography of darters (Pisces:Percidae) from the North American Central Highlands. *Evolution* 50:2023–2036.
- TURNER, K.T., FOGWILL, C.J., MCCULLOCH, R.D. & SUGDEN, D.E. 2005. Deglaciation of the eastern flank of the North Patagonian Icefield and associated continental-scale lake diversions. *Geografiska Annaler* 87: 363–374.
- VALLEJOS, P. 1996. Utilización de bivalvos de agua dulce (*Diplodon chilensis*) para tratamientos de aguas domésticas residuales. Informe técnico. Proyecto de investigación realizado para CIDERE Biobío. 95 pp.
- VALDOVINOS, C. & CUEVAS, R. 1996. Tasa de aclarancia de *Diplodon chilensis* (Bivalvia, Hyriidae) un suspensivoro bentónico dulceacuícola de Chile Central. *Medio Ambiente* 13(1) 114-118.
- VALDOVINOS, C. & FIGUEROA, R. 2000. Benthic community metabolism and trophic conditions of four South American lakes. *Hydrobiologia* 429:151-156.
- VALDOVINOS, C. & PEDREROS, P. 2007. Geographic variations in shell growth rates of the mussel *Diplodon chilensis* from temperate lakes of Chile: Implications for biodiversity conservation. *Limnologia* 37 (1): 63-75.
- VAN DER BANK, F. H. 1995. Allozyme variation in a freshwater mussel population (*Coelatura kunenensis* Mousson, 1887) from southern Africa. *Water SA* 21:153–157.
- VAUGHN, C. C. & HAKENKAMP, C. C. 2001. The functional role of burrowing bivalves in freshwater ecosystems. *Freshwater Biology* 46:1431-1446.
- VIOZZI, G.P & BRUGNI, N.L. 2001 Relación parasitaria y nuevos registros de gloquideos de *Diplodon chilensis* (Unionacea: Hyriidae) en peces de la Patagonia argentina. *Neotropica* 47:3-12.
- WALKER, K.F., BYRNE, M., HICKEY, C.W. & ROPER, D.C. 2001. Freshwater Mussels (Hyriidae) of Australasia. In: *Ecology and Evolution Freshwater Mussels Unionoida* (eds. Bauer, G. & K. Watchler), pp. 4-31. Springer Verlag, Berlin.
- WILLIAMS, J. D., FULLER, S. L. H. & GRACE, R. 1992. Effects of impoundments on freshwater mussels (Mollusca: Bivalvia: Unionidae) in the main channel of the Black Warrior and Tombigbee Rivers in western Alabama. *Bulletin Alabama Museum of Natural History* 13: 1-10.
- White, G.M., Boshier, D.H. & Powell, W. 1999. Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. *Molecular Ecology* 8: 1899-1909.
- WOOD, P.J. & ARMITAGE, P.D. 1997. Biological effects of fine sediment in the lotic environment. *Environmental Management* 21: 203-217.
- YEH, F.C., YANG, R.C., BOYLE, T.B.J., YE, Z.H. & MAO, J.Y.X. 1997. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. *Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.*
- ZOUROS, E. & FOLTZ, D. 1984. Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve mollusks. *Malacologia* 25:583–591.

Recibido: 17.03.10
Aceptado: 24.08.10