

NUEVOS ANTECEDENTES EVOLUTIVOS Y BIOGEOGRÁFICOS DE *MACROCYCLIS PERUVIANUS* (LAMARCK, 1822), ESPECIE ENDÉMICA EN LOS BOSQUES DE CHILE)

New evolutionary and biogeographic antecedents of *Macrocyclus peruvianus* (Lamarck, 1822), endemic species in the forests of Chile)

Carmen G. Fuentealba¹ & Edgardo Flores²

¹Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad del Biobío, Avenida Andrés Bello s/n, Casilla 447, Chillán, Chile. E-mail: Carmen.fuentealba@gmail.com

²Fundación Nahuelbuta Natural. Jerónimo Trettel 105, Cañete, Chile.

Introducción

La fauna de gasterópodos terrestres a diferencia de los dulceacuícolas y marinos en Chile es bastante poco conocida, una especie emblemática de esta fauna de gasterópodos terrestres es *Macrocyclus peruvianus* conocido comúnmente como, “caracol negro” o “caracol gigante” (Silva & Thome 2009) (Fig.1). Respecto a la sinonimia corresponde a las siguientes especies: *Helix peruviana* Lamarck, 1822, *Helix laxata* A.E.J. Férussac, 1821, *Helix* (*Helicella*) *laxata* A.E.J. Férussac, 1821, *Helicella laxata* (A.E.J. Férussac, 1821), *Macrocyclus laxata* (A.E.J. Férussac, 1821).



Figura 1: Ejemplares vivos de *Macrocyclus peruvianus* colectados Santuario de la Naturaleza el Natri, en la comuna de Contulmo.

Autor de correspondencia

Carmen G. Fuentealba, Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias, Universidad del Biobío, Avenida Andrés Bello s/n, Casilla 447, Chillán, Chile. E-mail: carmen.fuentealba@gmail.com

Recibido: 28 junio de 2020. Revisado: 30 junio de 2020. Aceptado: 15 agosto de 2020.

La localidad tipo de esta especie, inicialmente se describió en Perú, sin embargo, se transfirió a Chile, pero bajo la denominación de ambigua. Actualmente es un género monotípico y es la única especie de la familia Acavidae en Chile (Stuardo & Vega, 1985). Se distribuye latitudinalmente entre los 35° y 45° S, su distribución es restringida también a Zona de Neuquén, sector río Negro, incluyendo avistamiento en Nahuel Huapi (Letelier & Ramos 2002).

El tamaño promedio es de 6 a 7 cm, superficie de la concha de un color marrón rojizo, heliforme, umbilicada espira obtusa, perístomo agudo, conchilla no esculpada, la abertura oblicua (Fernández & Castellanos, 1973). El ciclo reproductivo de esta especie es actualmente desconocido, la morfología del sistema reproductor es descrito en detalle en los trabajos de da Silva & Thome (2009). La rádula principalmente presenta tres dientes, los marginales y laterales unicúspides se inclinan al diente central también unicúspide pero con mesocono ovalado, los laterales mesocono estrecho afilado y marginales mesocono largo y redondeado, los dientes marginales simples alargados, fórmula radular: C10-14/1 + L 16-25/2 + M19-26/2 (Silva & Thome, 2009). Los hábitos son preferentemente nocturnos y de día se visualizan ocasionalmente, cuando caen precipitaciones, por lo que encontrarlo no es

una tarea fácil, es más frecuente encontrar conchas vacías. Se encuentra asociado, a un hábitat boscoso, del tipo siempre verde esclerófilo. Algunas interacciones ecológicas y formando parte de la dieta de esta especie se encuentran los musgos, líquenes y hepáticas, de preferencia la especie *Plagiochila* (Letelier & Ramos, 2002), no obstante, la información es limitada y existen a la fecha diversos “gaps” principalmente en su historia de vida.

Nuevos antecedentes biogeográficos y evolutivos

Esta especie pertenece a la familia de gasterópodos terrestres Acavidae del Orden Stylommatophora, la que se distribuye en diferentes continentes: África, India, Madagascar, Sri Lanka, Australia y Sudamérica (Stuardo & Vega, 1985). Esta distribución es limitada por importantes barreras oceánicas sugiriendo hipótesis de tipo vicariantes, relacionadas a una distribución Gondwánica. En este sentido, *Macrocyclus peruvianus* correspondería a un relicto biogeográfico de estos eventos vicariantes.

En un intento de establecer la filogenia global de los Stylommatophora Wade et al., (2001), incluyo a la familia Acavidae en su reconstrucción filogenética, no obstante, la filogenia fue incongruente quedando los ejemplares junto a otras familias y en diferentes clados. Posteriormente, según los trabajos de Ramírez (2012), donde se buscaba establecer las relaciones filogenéticas de los Stylommatophora, con énfasis en *Megalobulimus* y *Systrophia* de la Amazonia, las relaciones de los Acavidae no pudieron ser establecidas, resultando una politomía junto a los miembros de las familias Dorcasidae. Esta situación ha ocurrido, porque no se han incluido a la mayoría de los ejemplares de Acavidae en la reconstrucción filogenética, las secuencias utilizadas provienen solo de dos especies provenientes de Sri Lanka y Madagascar, excluyendo a los grupos sudamericanos.

El objetivo del siguiente reporte es entregar nuevos antecedentes relacionados al origen biogeográfico y evolutivo de *Macrocyclus peruvianus*, mediante análisis molecular.

La muestra en terreno del ejemplar fue obtenida con apoyo de muestreos realizados por CIEP Centro de Investigación Ecosistemas de la Patagonia, año 2010. Se incorporó una secuencia sudamericana perteneciente a *Macrocyclus peruvianus* desde la región de Aysén 44°19'28"S 72°33'32"W (Fig.2), cercanías de Puyuhuapi. Los ejemplares fueron conservados en alcohol al 70%. Las extracciones utilizando tejido desde el manto, se realizaron siguiendo las instrucciones del proveedor mediante el Kit Wizard SV Genomic DNA Purification System (Promega).

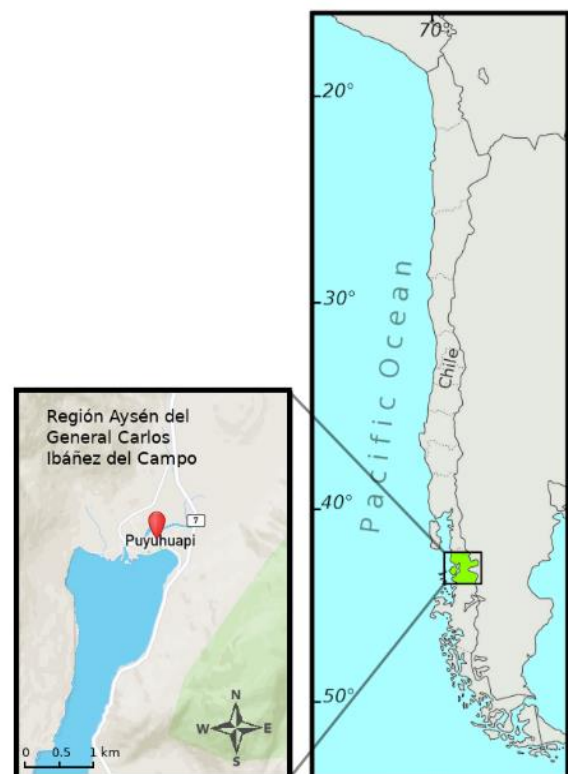


Figura 2: Mapa muestra sitio de colecta del ejemplar *Macrocyclus peruvianus*.

En la posterior amplificación se utilizó el marcador nuclear, con los primers LSU1 y LSU3, para amplificar la región 3' del gen 5.8S rRNA (aprox. 80 pb), el ITS-2 completo y la región 5' del gen 28S rRNA (aprox. 370pb). El protocolo de amplificación se realizó con 35 ciclos. Cada ciclo con una fase de denaturación a 94°C por 2 min 30s, annealing a 43 a 55 °C por 45 s, según primer una fase elongación 72 °C por 45 s y de extensión final a 72°C por 10 min. Los productos de PCR amplificados, fueron separados en un gel agarosa

al 1% (TAE). Los amplificadores fueron enviados para su posterior secuenciación a MacroGen (Korea). Las secuencias fueron editadas con Codon Code Aligner v 4.04 Demo (CodonCode, Dedham, USA). El Alineamiento de secuencias de un total de 28 especies se realizó con el programa Clustal X (Larkin et al., 2007). Para la reconstrucción de los estados ancestrales (áreas) y estimación de las tasas de transición se llevaron a cabo en el programa BayesTraits v 1.0 (Pagel & Meade, 2004). Para evaluar el clado de máxima credibilidad y la altura del nodo se utilizó TreeAnnotator v1.6.1. La información resumida de los análisis se visualizó con el software FigTree v.1.3.1. Se utilizó Genbank para acceder a las 27 secuencias que representan a las otras familias del Orden Stylommatophora, utilizadas en el siguiente estudio.

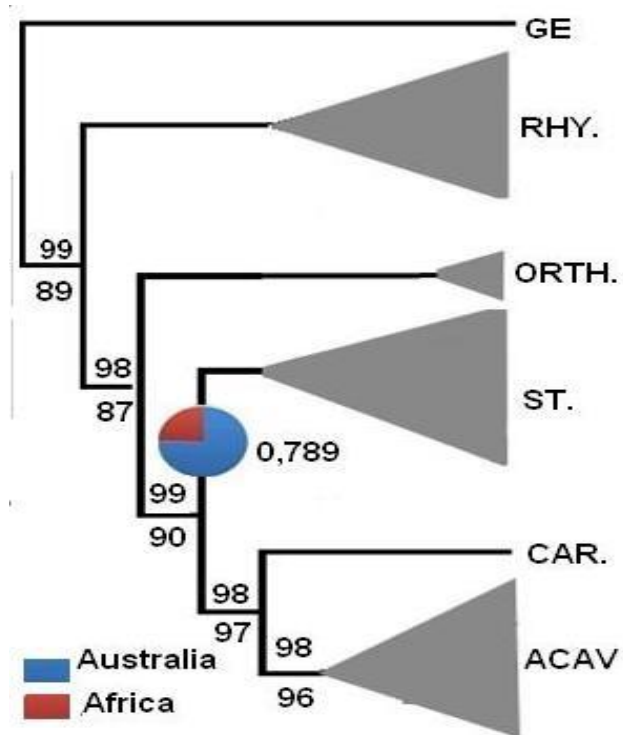


Figura 3: Árbol filogenético de Stylommatophora colapsado, sobre los nodos los valores de probabilidad (PP) y bajo los nodos los valores de Máxima Verosimilitud (MV). Grafica muestra probabilidad del ancestro (GE): grupo externo, (RHY): Rhytidae, (ORTH): Orthalicidae, (ST): Strophocheilidae, (CAR): Caryodidae y (ACAV): Acavidae.

Resultados

Se obtuvo ADN de excelente calidad y amplificado de *Macrocyclus peruvianus* el que puede ser incorporado a la reconstrucción filogenética. Se reconstruyó posteriormente la filogenia basada en la metodología de Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB). Respecto a las relaciones filogenéticas de los Acavidae forman un grupo monofilético que se encuentra relacionado con valores de Bootstrap (BT) sobre 96% y de probabilidades (PP)= 98%. De acuerdo con lo observado en el árbol, Acavidae comparte relación con los grupos Caryodidae australianos (Fig.3). Se estableció el tipo de relación que presentan a nivel continental los grupos sudamericanos mediante las relaciones biogeográficas. El color del nodo destacado, indica el ancestro hipotético del grupo y sugiere en este caso, el origen desde Australia con una probabilidad del PP: 0.789. Las tasas de transición muestran que existe una mayor tasa de migración dentro de la familia Acavidae desde Sudamérica hacia África ($q_{1-2}=45$), a diferencia de otras rutas migratorias esta es la más probable.

Discusión

A pesar de lo preliminar de nuestros resultados se logró con esta única secuencia, resolver el enigmático clado de la familia Acavidae, el cual es un grupo monofilético. Este clado está relacionado filogenéticamente dentro del Orden Stylommatophora con Caryodidae, familia representada por especies australianas, resolviendo de esta forma las incongruencias filogenéticas planteadas por Wade et al., (2001) y Ramírez et al., (2012). En relación con el ancestro de Acavidae, basado en las tasas de transición calculadas y las relaciones aportadas por la filogenia, estas plantean un robusto origen biogeográfico desde Australia.

La distribución actual de *Macrocyclus peruvianus* es atribuida a conexiones en el pasado del tipo Gondwánica, lo que habría permitido que estos gasterópodos terrestres pudiesen desplazarse y tener un amplio rango de distribución en el pasado y cuya actual distribución es consecuencia de eventos vicariantes.

Finalmente, aún faltan muchos datos biológicos por determinar, sin embargo, esperamos con estos nuevos antecedentes biogeográficos, contribuir al conocimiento y valoración de esta especie endémica en Chile.

Referencias

- Da Silva LF & Thome JW .2009. *Macrocyclus peruvianus* (Gastropoda, Acauidae), an endemic land snail from Chile. *Iheringia Série Zoologia* 99(2):125-128.
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, Mcgettigan PA, Mcwilliam F, Valentin H, Wallace I M, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ & Higgins DG. 2007. ClustalW and ClustalX version 2.0. *Bioinformatics*, 23: 2947-2948.
- Letelier S V & Ramos AM L. 2002. Moluscos terrestres y de aguas continentales de la expedición Iniciativa Darwin (1998-1999), región de Aisén, zona austral de Chile. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural* 51:185-195.
- Pagel M & Meade A. 2004. A Phylogenetic Mixture Model for detecting pattern-heterogeneity in gene sequence or character-state data. *Systematic Biology* 53: 571–581.
- Ramirez R, Borda P, Romero J, Ramirez C, Congrains J, Chirinos P., Ramírez L, Velásquez & MEJIA K. 2012. Biodiversidad y endemismo de los caracoles terrestres *Megalobulimus* y *Systrophia* en la Amazonia occidental. *Revista peruana de biología*, 19(1): 59 - 74
- Stuardo J & Vega R.1985. Synopsis of the Land Mollusca of Chile. With Remarks on Distribution. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 20(3):125-146.
- Wade CM, Morgan PB & Clarke B. 2001. A phylogeny of the land snails (Gastropoda: Pulmonata). *Proceedings of the Royal Society Land B* 268:413-422.