

	<b>UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER OCAÑA</b>			
	Documento	Código	Fecha	Revisión
FORMATO HOJA DE RESUMEN PARA TRABAJO DE GRADO	F-AC-DBL-007	10-04-2012	A	
DIVISIÓN DE BIBLIOTECA	Dependencia	Aprobado	Pág.	
	SUBDIRECTOR ACADEMICO	1(69)		

### RESUMEN – TRABAJO DE GRADO

AUTORES	LUZ MARINA GUEVARA RINCON
FACULTAD	FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS	ZOOTECNIA
DIRECTOR	JUAN CARLOS NARVÁEZ BARANDICA
TÍTULO DE LA TESIS	EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA POBLACIÓN SILVESTRE Y CULTIVADA DEL BOCACHICO <i>Prochilodus reticulatus</i> (CHARACIFORMES: PROCHILODONTIDAE) ASOCIADA A LA CUENCA DEL RÍO CATATUMBO Y A CENTROS PISCÍCOLAS EN EL DEPARTAMENTO DEL NORTE DE SANTANDER

#### RESUMEN

(70 palabras aproximadamente)

LA CUENCA DEL RÍO CATATUMBO APORTA EL MAYOR VOLUMEN DE AGUA DULCE AL LAGO DE MARACAIBO, EN ESTE SISTEMA SE RECONOCEN CUATRO MICROCUENCAS, LA PRINCIPAL LA DEL RÍO CATATUMBO LA CUAL SE ENCUENTRAN ESPECIES MIGRADORAS DE IMPORTANCIA ECONÓMICA, ECOLÓGICA Y DE CONSERVACIÓN COMO EL BOCACHICO, *PROCHILODUS RETICULATUS*. SIN EMBARGO, LA GRAN INTERVENCIÓN HUMANA LA DEFORESTACIÓN, EROSIÓN, SEDIMENTACIÓN, JUNTO CON LA SOBRE PESCA, HAN LOGRADO QUE LA POBLACIÓN DEL BOCACHICO EN LA CUENCA DEL RÍO CATATUMBO DISMINUYA AL PUNTO DE CONSIDERAR A ESTA ESPECIE EN PELIGRO DE EXTINCIÓN Y EVALUAR LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA POBLACIÓN SILVESTRE Y CULTIVADA DE BOCACHICO *PROCHILODUS RETICULATUS* ASOCIADA AL RÍO CATATUMBO Y A DOS CENTROS PISCÍCOLAS QUE FOMENTAN LA REPOBLACIÓN EN DEPARTAMENTO DEL NORTE DE SANTANDER.

#### CARACTERÍSTICAS

PÁGINAS: 69	PLANOS:	ILUSTRACIONES:	CD-ROM: 1
-------------	---------	----------------	-----------



VÍA ACOLSURE, SEDE EL ALGODONAL, OCAÑA N. DE S.  
 Línea Gratuita Nacional 018000 121022 / PBX: 097-5690088  
[www.ufpso.edu.co](http://www.ufpso.edu.co)



**EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA POBLACIÓN  
SILVESTRE Y CULTIVADA DEL BOCACHICO *Prochilodus reticulatus*  
(CHARACIFORMES: PROCHILODONTIDAE) ASOCIADA A LA CUENCA DEL  
RÍO CATATUMBO Y A CENTROS PISCÍCOLAS EN EL DEPARTAMENTO DEL  
NORTE DE SANTANDER**

**LUZ MARINA GUEVARA RINCON**

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
ZOOTECNIA  
OCAÑA  
2015**

**EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA POBLACIÓN  
SILVESTRE Y CULTIVADA DEL BOCACHICO *Prochilodus reticulatus*  
(CHARACIFORMES: PROCHILODONTIDAE) ASOCIADA A LA CUENCA DEL  
RÍO CATATUMBO Y A CENTROS PISCÍCOLAS EN EL DEPARTAMENTO DEL  
NORTE DE SANTANDER**

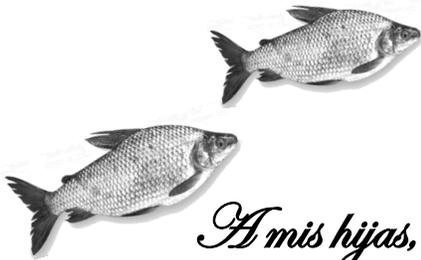
**LUZ MARINA GUEVARA RINCON**

**Trabajo presentado para optar al título de Zootecnista**

**Director  
M.Sc JUAN CARLOS NARVÁEZ BARANDICA**

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
ZOOTECNIA  
OCAÑA  
2015**

DEDICATORIA



*A Dios y a su infinito Amor*  
*A mis hijas, Inés Fiorella y Sarah Nicole Lemus Guevara*  
*A mis padres Saul Guevara y Luz Marina Rincón*  
*A mis hermanos Yeraldín, Andrés Mauricio y Saul Ernesto*

## AGRADECIMIENTOS

Primero quiero agradecer a Dios por ésta nueva oportunidad, y por todas las bendiciones que recibo a diario de su mano, no me siento digna de ellas pero no puedo ignorarlas y gracias por poner tus ojos misericordiosos sobre mi demostrando el gran amor que siente por mí.

A mis hijas que son las dueñas de mi vida, y de la otra vida si la tengo y en sus ojos está plasmado el inmenso amor que les profeso y por el cual estoy superándome porque además de ser el motor que me mantiene viva son el motor de mis sueños.

A mis padres que son el ejemplo más real de responsabilidad, lealtad y dignidad que me ha podido dar la vida, gracias por sus sacrificios y por ese amor tan infinito y ese desprendimiento para ayudarnos hacer realidad nuestros sueños.

A mis tres Hermanos quienes representan los mejores compañeros, amigos, confidentes, y un apoyo incondicional, tan desinteresado, tan hermoso que sólo se puede sentir cuando se ama de verdad y nuestros padres nos enseñaron verdadero significado de amor y por eso somos los mejores hermanos del mundo.

A mi alma mater Universidad Francisco de Paula Santander quien me recibió para que yo pudiera hacer realidad mi sueño de ser una profesional.

A mi profesor y director Juan Carlos Narváez que un día Dios colocó en mi camino como su instrumento para que hiciera parte de su equipo y a su lado hiciera realidad mi sueño de ser una profesional.

A mi Asesor y amigo Gilberto Orozco a quien le agradezco su orientación, escucha y dedicación quien me motivó para creer que los sueños si se hacen realidad.

A mi compañero, profesor y amigo Eider Muñoz con su tiempo desprendimiento y conocimiento me enseñó y me guió en el proceso de laboratorio.

A toda la familia Gíbea quienes aportaron en mi proceso de aprendizaje y desarrollo de mi tesis, Tulia Narváez, Juan Carlos Aguirre. contraste de nuestros sueños profesionales.

A mis profesores y compañeros de la universidad de los cuales guardo los mejores recuerdos, porque aportaron en gran medida en mi formación.

Para finalizar se preguntarán porque repite tanto la palabra sueño, y es que soñar no cuesta nada yo soñé un día y acá me encuentro materializando mis sueños.

## TABLA DE CONTENIDO

	pág.
<b><u>INTRODUCCION</u></b>	<b>10</b>
<b>1. EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA POBLACIÓN SILVESTRE Y CULTIVADA DEL BOCACHICO <i>Prochilodus reticulatus</i> (CHARACIFORMES: PROCHILODONTIDAE) ASOCIADA A LA CUENCA DEL RÍO CATATUMBO Y A CENTROS PISCÍCOLAS EN EL DEPARTAMENTO DEL NORTE DE SANTANDER</b> .....	<b>14</b>
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	14
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	16
1.3. OBJETIVOS .....	17
1.3.1. Objetivo general: .....	17
1.3.2. Objetivos específicos:.....	17
<b>2. MARCO REFERENCIAL</b> .....	<b>18</b>
2.1. MARCO HISTORICO .....	18
2.1.1 Estudios de estructura genética en poblaciones de peces migratorios neotropicales .....	18
2.1.2 Estudios de estructura genética en poblaciones de peces migratorios en Colombia .....	19
2.2. MARCO TEÓRICO .....	19
2.2.1 Evaluación de las relaciones y diferencias genéticas de los bocachicos <i>Prochilodus magdalenae</i> (Characiformes, Prochilodontidae) que toman dos rutas migratorias en la parte baja de la cuenca del río Magdalena-Colombia .....	19
2.2.2 Evaluación de la variabilidad y estructura genética de la población silvestre y cultivada de bocachico <i>Prochilodus magdalenae</i> (Characiformes: Prochilodontidae) en la cuenca del río Sinú y en dos estaciones piscícolas del departamento de Córdoba-Colombia. ....	20
2.2.3 Evaluación de la estructura genética de la población de bocachico <i>Prochilodus magdalenae</i> (Characiformes, Prochilodontidae) en la cuenca del río Magdalena y en sus principales tributarios - Colombia. ....	20
2.2.4 Establecimiento de dos lotes de reproductores de Bocachico <i>Prochilodus magdalenae</i> (Characiformes, Prochilodontidae) utilizando criterios genéticos para obtener progenies con fines de repoblamiento.....	19
2.2.5 Evaluación de la calidad genética de sistemas de reproductores de bocachico <i>Prochilodus magdalenae</i> (Pisces: Prochilodontidae) usados para repoblamiento en dos estaciones piscícolas.....	22
2.3. MARCO CONCEPTUAL .....	22
2.3.1 Cuenca del Río Catatumbo .....	22
2.3.2 Generalidades del bocachico <i>Prochilodus reticulatus</i> .....	23
2.3.3 MARCADORES MICROSÁTELITES .....	25

	pag.
2.3.4 CUELLO DE BOTELLA .....	26
2.4 MARCO LEGAL .....	27
<b>3. DISEÑO METODOLÓGICO.....</b>	<b>30</b>
3.1 METODOLOGIA PROPUESTA .....	30
3.1.1 Tipo de investigación.....	30
3.1.2 Población.....	30
3.1.3 Muestra. ....	30
3.2 METODOLOGÍA .....	31
3.2.1 Área de estudio: Localidades de recolecta, obtención y procesamiento del material biológico.....	31
3.3 LOCALIZACION.....	30
3.4 RESULTADOS.....	37
3.4.1 Polimorfismo de los <i>loci</i> microsatélites y diversidad genética global (Objetivo 1) .....	38
3.4.2 Diferenciación génica entre poblaciones de <i>Prochilodus reticulatus</i> (Objetivo 2).....	44
3.5 DISCUSIÓN .....	50
3.5.1 Variabilidad genética intrapoblacional.....	50
3.5.2 Diversidad genética en las diferentes localidades Analizadas.....	52
3.5.3 Implicaciones para la conservación (Objetivo 3) .....	60
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>63</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>64</b>

## LISTAS DE FIGURAS

pág.

<b>Figura 1</b>	<b>Mapa de los ríos continentales que drenan al lago de Maracaibo</b>	<b>23</b>
<b>Figura 2</b>	<b>Bocachico <i>Prochilodus reticulatus</i></b>	<b>24</b>
<b>Figura 3</b>	<b>Localización de los puntos de recolecta de muestras de tejido en individuos de <i>Prochilodus reticulatus</i>. Los números representan las localidades a muestrear (Tabla 2)</b>	<b>31</b>
<b>Figura 4</b>	<b>Resultado de la genotipificación del locus PL28 y PL 34 para un individuo, utilizando el programa QIAxcel ScreenGel v1.0. Todas las muestras corrieron junto a un marcador de alineamiento entre 15 y 1000 pares de base (DNA Aligment Marker) para determina</b>	
<b>Figura 5</b>	<b>Verificación del resultado de ADN en gel de Agarosa al 2% con electroforesis horizontal.</b>	<b>36</b>
<b>Figura 6</b>	<b>Verificación del resultado de ADN en gel de Agarosa al 2% con electroforesis horizontal de la PCR.</b>	<b>37</b>
<b>Figura 7</b>	<b>Verificación del resultado de la verificación de ADN en gel de Agarosa al 2% con electroforesis horizontal de la PCR con escalera de Hiperlade IV.</b>	<b>38</b>
<b>Figura 8</b>	<b>Resultado de la genotipificación del locus PL14, PL23 y PL119 para un individuo, utilizando el programa QIAxcel ScreenGel v1.0. Todas las muestras corrieron junto a un marcador de alineamiento entre 15 y 1000 pares de base (DNA Aligment Marker</b>	<b>39</b>
<b>Figura 9</b>	<b>Resultado de la genotipificación del locus PL64 para un individuo, utilizando el programa QIAxcel ScreenGel v1.0. Todas las muestras corrieron junto a un marcador de alineamiento entre 15 y 1000 pares de base (DNA Aligment Marker) para determinar el tam</b>	<b>40</b>
<b>Figura 10</b>	<b>Fotografía espacial de la Universidad del Magdalena</b>	<b>41</b>
<b>Figura 11</b>	<b>Prueba grafica de cuello de botella. Histogramas de distribución de frecuencias alélicas para la población de <i>P. reticulatus</i> de las cuatro Subcuencas del río Catatumbo y en los dos centros piscícolas.</b>	<b>43</b>
<b>Figura 12</b>	<b>Gráfico barr plot con el más alto valor para Delta K (K=3), resultado del agrupamiento generado por el programa STRUCTURE. Cada individuo de <i>P. reticulatus</i> está representado por una barra vertical cuyo color indica el coeficiente de parentesco a cada uno</b>	<b>48</b>
<b>Figura 13</b>	<b>Gráfico barr plot con el más alto valor para Delta K (K=2), resultado del agrupamiento generado por el programa STRUCTURE. Cada individuo de <i>P. reticulatus</i> está representado por una barra vertical cuyo color indica el coeficiente de parentesco a cada uno de los cluster. b) Valores del Delta K según la corrección de Evanno et al., 2005 mostrando el mayor valor para K=2.</b>	<b>49</b>
<b>Figura 14</b>	<b>Dendrograma de Neighbor-Joining utilizando la distancia genética de Nei (1997) para las seis localidades muestreadas</b>	<b>50</b>

## LISTAS DE TABLAS

pág.

<b>Tabla 1. Muestras de <i>P. reticulatus</i> colectadas, sometidas a extracción y resultados positivos para extracción clasificadas por localidad. Se indica el porcentaje de éxito en la extracción (%).</b>	<b>38</b>
<b>Tabla 2. Número de alelos/locus (<math>N_a</math>), heterocigosidad esperada (HE) y observada (HO) e índice de endogamia (Fis) obtenidos para los seis loci microsatélites en 263 individuos de <i>P. reticulatus</i> muestreados en cuatro localidades del medio natural en la cuenca del</b>	<b>39</b>
<b>Tabla 3. Alelos únicos encontrados en las diferentes localidades muestreadas en la población <i>P. reticulatus</i>.</b>	<b>41</b>
<b>Tabla 4. Parámetros de variabilidad genética en la población de Bocachico <i>Prochilodus reticulatus</i>.</b>	<b>41</b>
<b>Tabla 5. Valores de riqueza alélica encontrados en las diferentes localidades muestreadas en la población de <i>P. reticulatus</i></b>	<b>41</b>
<b>Tabla 6. Prueba de Wilcoxon para verificar la existencia de cuellos de botella en las diferentes localidades muestreadas. El análisis fue realizado bajo tres modelos evolutivos IAM, TPM y SSM.</b>	<b>42</b>
<b>Tabla 7. Valores de <math>F_{ST}</math> estimados entre los individuos de <i>P. reticulatus</i> entre pares de las 4 localidades muestreadas del medio natural utilizando seis locus microsatélites para un primer nivel jerárquico.</b>	<b>44</b>
<b>Tabla 8. Valores de <math>F_{ST}</math> estimados entre los individuos de <i>P. reticulatus</i> entre pares de las 6 localidades muestreadas del medio natural y dos centros piscícolas del departamento del Norte de Santander utilizando seis locus microsatélites para un nivel jerárquico</b>	<b>45</b>
<b>Tabla 9. Análisis Molecular de Variancia (AMOVA) en <i>P. reticulatus</i>, en seis localidades, cuatro del medio natural distribuidas en la cuenca del río Catatumbo y dos de centros, utilizando seis loci de microsatélites.</b>	<b>47</b>
<b>Tabla 10. Prueba de asignación para identificación de individuos residente e inmigrantes de <i>P. reticulatus</i> presentes en las diferentes localidades muestreadas.</b>	<b>48</b>
<b>Tabla 11. Análisis comparativo de los índices de variabilidad genética obtenidos a partir marcadores moleculares microsatélites en algunas especies de peces migratorios presentes en ríos suramericanos.</b>	<b>52</b>

## LISTA DE CUADROS

pág.

<b>Cuadro 1 . Localidades de recolección de muestras de aleta caudal de <i>Prochilodus reticulatus</i>.</b>	<b>29</b>
<b>Cuadro 2. Locus microsatélites que se utilizarán en los análisis poblacionales de <i>Prochilodus reticulatus</i> en cuatro localidades de la cuenca del río Catatumbo y en dos estaciones piscícolas (Corponor) y (Los Alcarabanes) del departamento de Norte de Santander.</b>	<b>32</b>

## INTRODUCCION

La cuenca del río Catatumbo aporta el mayor volumen de agua dulce al Lago de Maracaibo, cerca de 1140000 litros, cerca del 60% del total de agua dulce. En este sistema se reconocen cuatro microcuencas, la principal la del río Catatumbo compuesta por el río Algodonal; microcuenca del río Sardinata, la microcuenca del río Zulia y por último la microcuenca del río Pamplonita (Galvis et al. 1997, IGAC 2003). A pesar del tamaño reducido de la subcuenca, por su complejidad, la riqueza por unidad de área es alta. Esta condición ha llamado la atención desde el punto de vista biogeográfico, sin embargo son muy pocos los estudios referidos específicamente al río Catatumbo, debido a un largo historial de problemas de orden público, adicionalmente es una fuente de problemas graves de contaminación debido fundamentalmente a derrames de petróleo, plaguicidas organoclorados, diques marginales construidos para el control de las inundaciones y el denominado saneamiento de tierras, la extracción directa de agua para el uso agropecuario (riego), tala de bosques para la extracción de madera y actividades ilegales de grupos armados, entre otros (Rodríguez 2000, Colonnello y Lasso-Alcalá 2011).

Los peces del orden Characiformes, dominan las aguas dulces continentales suramericana, debido a su adaptación morfológica y fisiológica como respuesta a las exigencias de cada ecosistema, varias especies pertenecientes a este orden son de gran importancia como fuente de alimentación para los habitantes de las zonas riverañas de nuestra cuenca. Donde se destaca el bocachico *Prochilodus reticulatus*, constituyendo con otras dos especies de interés comercial el 70% de la extracción pesquera (Navarro, 2006).

Siendo evidente la degradación de los ambientes acuáticos naturales, para mitigar los efectos negativos a la cual está siendo sometida la población de *Prochilodus reticulatus*, se han utilizado medidas de control tales como la veda, tallas reglamentarias, prohibición de artes de pesca y la repoblación. A pesar de los esfuerzos realizados, estos no han sido suficientes para lograr una recuperación de la población en el medio natural, lo que hace necesario implementar medidas preventivas que deben ser tomadas en cuanto al banco genético in situ del bocachico en la cuenca del río Catatumbo. En este sentido, el componente genético se convierte en una herramienta importante que permitiría dar un nuevo enfoque más acorde a la situación actual para el manejo y conservación de esta población. (Orozco 2014).

El recurso genético en dicha población es tomada a partir de variantes alélicas, los cuales pueden ser los responsables de asignar a su portador una característica importante, como por ejemplo un aumento en la resistencia frente a alguna enfermedad, o una mejor tolerancia al frío o mejor crecimiento (Beaumont & Hoare, 2003). En este sentido, comprender como se distribuyen las frecuencias alelicas en un área geográfica determinada, nos permitiría conocer la variabilidad población. La caracterización genética de poblaciones de bocachico, aportara datos importantes para los programas de conservación que involucren un programa de repoblación en la cuenca del río Catatumbo, de modo que no solo se conserve una especie de importancia comercial, sino que también se conserve y se mantenga el patrimonio genético de esta especie en la cuenca.

# **1. EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA POBLACIÓN SILVESTRE Y CULTIVADA DEL BOCACHICO *Prochilodus reticulatus* (CHARACIFORMES: PROCHILODONTIDAE) ASOCIADA A LA CUENCA DEL RÍO CATATUMBO Y A CENTROS PISCÍCOLAS EN EL DEPARTAMENTO DEL NORTE DE SANTANDER**

## **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La cuenca del río Catatumbo posee un área aproximada de 25600 km<sup>2</sup> de territorio compartido entre Colombia y Venezuela; de los cuales el 76,5% de la superficie de la cuenca (parte alta y media del río) se ubican en territorio colombiano, abarcando en su totalidad el departamento de Norte de Santander (IGAC 2003).

El Catatumbo es una región muy rica en diversidad ecológica, en sus aguas se encuentran una gran cantidad de peces de diferentes formas, tamaños, colores, hábitos, que enriquecen en gran medida la ictiofauna de los ríos y quebradas. Esto permite que esta región sea una de las más importantes en la actividad pesquera de Colombia, proporcionando un alto grado de desarrollo económico de la zona (Maldonado, 2005). Dentro de este grupo de peces tenemos a los del género *Prochilodus*. Este grupo está representado por 13 especies validas, distribuidas en los ríos de Suramérica que drenan al océano Atlántico (Gery, 1977; Bonetto et al., 1981; Castro y Vari 2004). Son considerados como los peces más conspicuos y abundantes que desarrollan grandes migraciones y sustentan una parte importante de las pesquerías continentales (Welcomme, 1979).

En Colombia, se cuenta con cinco especies, entre las cuales tenemos a *Prochilodus reticulatus*, quien se distribuye en las cuencas de los ríos Catatumbo y Ranchería (Castro y Vari 2004). Esta especie juega un papel importante en la seguridad alimentaria de centenares de familias ribereñas e influye en la economía de muchos municipios y veredas debido a su aprovechamiento pesquero. Desde el punto de vista ecológico, su importancia se resalta por su hábito detritívoro, convirtiéndose en un elemento clave en la dinámica trófica de las comunidades dulceacuícolas tropicales a través del procesamiento de sedimentos (Flecker, 1996).

Sin embargo, la gran intervención humana derivada del vertimiento de aguas residuales y residuos sólidos de origen doméstico e industrial, deforestación, erosión, sedimentación, actividades petroleras, minería de carbón, cultivos como arroz, palma aceitera, plátano, pastos, ganadería, uso masivo de plaguicidas, biocidas y fertilizantes, extracción de agua, construcción de embalses, diques y canales, introducción de especies exóticas y transferidas, dragado del Lago de Maracaibo para la navegación y actividades ilegales de grupos armados, amenazan la integridad biótica de los ecosistemas acuáticos y terrestres de la región (Colonnello y Lasso- Alcalá, 2011).

Todas estas actividades mencionadas anteriormente junto con la sobre pesca, han logrado que la población del bocachico en la cuenca del río Catatumbo disminuya al punto de

considerar a esta especie en peligro de extinción. Además, se ha reportado que la mayoría de los individuos son capturados sin haber alcanzado la talla media de madurez (CCI, 2009). Esta disminución puede estar relacionada con la subienda, ya que su talla media aumenta a finales y principios del año, coincidiendo con la temporada de migración de los ejemplares adultos, haciendo que se intensifique su pesca (Atencio, 1997; CCI, 2009). Lo anterior ha sido identificado como los principales factores que afectan su biología y ecología con posibles consecuencias genéticas que podrían estar limitando su capacidad de supervivencia (Orozco, 2014).

Debido a esta problemática se han implementado diversas estrategias de manejo con miras a su conservación, tales como la prohibición de algunos artes de pesca, regulación de las tallas, vedas y la repoblación. Este último, es una de las más utilizadas para la recuperación y rehabilitación pesquera. Sin embargo, esta actividad involucra un riesgo relativo en cuanto a la eficiencia de estos programas, ya que se realizan sin criterios técnicos y científicos (Hickley, 1994). A pesar de lo anterior, estas estrategias no han sido suficientes para lograr la rehabilitación de la población en medio natural y aún no se reportan estudios que documenten el verdadero efecto de las mismas sobre la población. En este sentido, las medidas preventivas para la conservación del bocachico deben ser tomadas en cuanto al banco genético *in situ* de la población (Campos, 2009). Las irreversibles alteraciones ambientales guían a una perspectiva de manejo en cautividad de *P. reticulatus*, haciendo necesario seleccionar individuos que representen la diversidad genética de las poblaciones naturales que posteriormente sean utilizados en los programas de repoblación (Ryder, 1986; Seal, 1988; Wasko et al., 2004). Por eso la correcta selección del grupo de reproductores que sean usados para este propósito son de suma importancia (Wasko et al., 2004).

Si bien la repoblación se presenta como una estrategia para recuperar poblaciones de peces sobre explotadas destinadas a la extinción (Godinho y Godinho, 2003), la ejecución de estos programas afecta la preservación del *pool* genético de la población natural debido al manejo que se le da a los reproductores dentro de las estaciones piscícolas, las cuales no cuentan con un criterio técnico y científico, específicamente con un criterio genético que soporte la realización de dicha actividad. En ausencia de éste último criterio, la problemática se magnifica ya que se puede acelerar la pérdida de variabilidad genética de las poblaciones repobladas introduciendo información innecesaria para la población, así como también se incrementa la probabilidad de aparición de alelos deletéreos en las poblaciones en medio natural. De igual forma, es probable que se estén realizando cruces entre individuos emparentados, trayendo como consecuencia un aumento en la endogamia (Kang et al., 2006); seleccionando un número insuficiente de individuos para establecer los sistemas de reproductores (Aho et al., 2006). Esta es una de las situaciones más comunes en las estaciones piscícolas, ya que estas conforman sus nuevos lotes de reproductores basándose solamente en los tamaños de los individuos y en aquellos con mejores condiciones reproductivas.

El uso de técnicas moleculares permite estudiar una variedad de aspectos genéticos de las especies en peligro como por ejemplo: medir la variación genética de la población, conocer los patrones de intercambio genético entre poblaciones, definir unidades de manejo

genético para la conservación, evaluar los efectos en la estructura genética de poblaciones en las que han sido introducidos individuos provenientes de cultivos (Smith y Wayne, 1996, Castañeda 2012, Muñoz, 2013, Orozco, 2014).

El presente estudio tendrá como objetivo general responder la pregunta ¿Cuál es la estructura y diversidad genética de la población de *Prochilodus reticulatus* asociada al río Catatumbo y a centros piscícolas en el departamento del norte de Santander y sus implicaciones en los programas de conservación?

## **1.2. JUSTIFICACIÓN**

La región de la subcuenca del río Catatumbo presenta un paisaje heterogéneo, determinado por un amplio ámbito altitudinal (0 a 4100 m s.n.m.) que permite una gran variedad climática (Rodríguez *et al.* 1996). Esta condición ha llamado la atención desde el punto de vista biogeográfico, sin embargo son muy pocos los estudios referidos específicamente al río Catatumbo, debido a un largo historial de problemas de orden público (actividades ilegales de grupos armados) que no permitieron acceder a la porción colombiana de la subcuenca por varias décadas.

Esta suma de factores ambientales (naturales o antropogénicas) y la situación de orden público han dificultado en gran medida el establecimiento y la ejecución de proyectos dedicados a la caracterización de la fauna y flora de esta zona del país. De acuerdo a este contexto, los pocos esfuerzos realizados para mitigar los efectos negativos al cual está sometida la población de bocachico en la cuenca del río Catatumbo, no han sido suficientes para lograr una recuperación de esta en el medio natural. Bajo este escenario, se hace necesario implementar medidas preventivas que deben ser tomadas en cuanto al banco genético *in situ* del bocachico en esta cuenca (Campos, 2009). El componente genético se convierte en una herramienta importante que permitiría dar un nuevo enfoque más acorde a la situación actual para el manejo y conservación de esta población, que posiblemente está atravesando por una acelerada pérdida de su diversidad genética.

En Colombia han sido muy pocos los estudios de diversidad genética de especies endémicas, especialmente en peces (Castiblanco, 2003; Gallo y Díaz-Sarmiento, 2003; Santacruz, 2005; López, 2006; Pineda, 2004; Pineda et al., 2007; Castañeda, 2012; Aguirre et al., 2013; Orozco, 2014). Es necesario realizar una evaluación genética, que permita conocer el estado genético de estas especies que diariamente se enfrentan a una serie de peligros inherentes a su medio natural. De acuerdo lo anterior, la población de bocachico en la cuenca del Catatumbo, pueden estar atravesando por una acelerada disminución de su variabilidad genética puede estar magnificando la problemática de su conservación, lo cual puede disminuir su capacidad de respuesta frente a cambios ambientales, disminuyendo su abundancia y en última instancia, aumentando el riesgo de extinción de la especie.

Por tal motivo, la implementación de técnicas moleculares para el estudio de poblaciones silvestres en peligro se ha convertido en un valioso instrumento para identificar la diversidad genética de estas poblaciones.

En este sentido, identificar la variabilidad genética de la población de bocachico en la cuenca del río Catatumbo y en aquellas estaciones piscícolas encargadas de repoblar dicha cuenca a través del uso de marcadores moleculares como por ejemplo los microsatélites, es de suma importancia ya que permitirá entender los diferentes patrones genéticos entre posibles subpoblaciones y consecuentemente tratarlas como una Unidad de Manejo (MUs- *Management Units*) diferente a través del tratamiento de poblaciones en cautividad (Moritz, 1994), garantizando el éxito de su conservación y manejo (Machordom et al., 1999; Panarari, 2006; Piorski et al., 2008).

Lo anterior, crea la necesidad de evaluar las relaciones y diferencias genéticas existentes en población natural de bocachico asociada al río Catatumbo y a centros piscícolas en el departamento del Norte de Santander. Esto permitirá: Primero; resaltar la importancia de los cuerpos de agua marginales asociados al río Catatumbo en los cuales se cría el bocachico. Segundo; establecer las posibles relaciones y diferencias en la población de bocachico asociada al río Catatumbo y a los centros piscícolas facilitando el establecimiento de Unidades de Manejo Genético. Tercero; beneficiar las comunidades rivereñas que se encuentran alrededor de los ríos generando conciencias para la conservación del recurso pesquero. Cuarto; la comunidad educativa como generadora de proyectos de pregrado vinculando estudiantes y futuros profesionales en las problemáticas locales que contribuyan a mejorar las condiciones del río Catatumbo. Lo anterior, facilitaría la toma de decisiones que contribuyan a la valoración genética de estas especies de bocachico.

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. Objetivo general:**

Evaluar la estructura genética de la población silvestre y cultivada de bocachico *Prochilodus reticulatus* asociada al río Catatumbo y a dos centros piscícolas que fomentan la repoblación en departamento del Norte de Santander.

#### **1.3.2. Objetivos específicos:**

Evaluar la diversidad genética del bocachico *P. reticulatus* en la cuenca del río Catatumbo y en dos centros piscícolas del Norte de Santander.

Establecer las relaciones y diferencias entre las localidades muestreadas en el río Catatumbo y los dos centros piscícolas que fomentan la repoblación en el departamento del Norte de Santander.

Proponer los lineamientos técnicos para desarrollar programas de conservación con criterio genético en *P. reticulatus*.

## 2. MARCO REFERENCIAL

### 2.1. MARCO HISTORICO

**2.1.1 Estudios de estructura genética en poblaciones de peces migratorios neotropicales.** El patrón de distribución de la variación genética dentro de una población no es homogéneo. Estas se estructuran en grupos de individuos genéticamente similares y el grado de separación está relacionado directamente con la dispersión de individuos entre estos grupos, esto se conoce como estructura genética de una población (Laikre et al., 2005). A pesar que estudios de este tipo son relativamente nuevos, Suramérica ya cuenta con información referente a estructuración de poblaciones de peces, específicamente para el género *Prochilodus*.

Hatanaka y colaboradores (2006), revelan una subestructuración en la población de *Prochilodus argenteus* recolectada en diferentes sitios de la represa hidroeléctrica de las Três Marias (río São Francisco), la baja similaridad genética entre los sectores generó la diferenciación poblacional.

Sánchez (2007) sugiere que la población de *Brycon hilarii* (pez migratorio) se organiza en unidades reproductivas genéticamente diferenciadas que coexisten y comigran en la subcuenca del río Miranda. Reporta la existencia de núcleos organizados en una unidad genética poblacional, lo que enfrenta la idea actual de que peces migratorios de agua dulce forman una gran población panmítica en un sistema hidrográfico determinado.

Campos (2009) encuentra que los individuos utilizados para el repoblamiento de *Prochilodus argenteus*, presentan una reducción en la variabilidad alélica cuando es comparada con la de poblaciones naturales, demostrando que los programas de manejo y cultivo de esta especie necesitan apoyo del componente genético.

Wasko y Galetti Jr (2003) reportan que los peces de la especie *Brycon lundii* recolectados en diferentes estaciones del río Sao Francisco presentan simpatria, con la existencia mínima de dos poblaciones distintas, lo que probablemente se deba a migraciones reproductivas diferenciadas.

De igual manera, Barroca et al., (2012) observó similares resultados para las especies *P. costatus* y *P. argenteus* en la cuenca del río Sao Francisco a través de cinco localidades de muestreo a lo largo de esta cuenca. Sanches et al., (2012), registra por lo menos dos poblaciones definidas de *Brycon orthotaenia* en la cuenca del río Sao Francisco. Para la especie *Brycon opalinus* se ha reportado la estructuración de la población a lo largo de la cuenca de Paraíba do Sul (Barroso et al., 2005).

Otros estudios como los de Carvalho-Costa y colaboradores (2008) y Silva (2011), muestran la homogeneidad genética en la población de *Prochilodus costatus* entre los

tributarios de una cuenca, evidenciándose una sola unidad reproductiva en cuanto a la homogenización en el acervo genético de la población.

### **2.1.2 Estudios de estructura genética en poblaciones de peces migratorios en Colombia**

En Colombia han sido muy pocos los estudios de diversidad genética de especies endémicas, especialmente en peces (Castiblanco, 2003; Gallo y Díaz-Sarmiento, 2003; Santacruz, 2005; Pineda, 2004 López, 2006; Pineda et al. 2007; Castañeda, 2012; Aguirre et al., 2013; Orozco, 2014). Haciendo referencia al *Prochilodus magdalenae* ha sido objeto de estudio para conocer aspectos sobre su pesquería (Valderrama y Solano, 2004; Martínez et al., 2006) y cultivo (Atencio et al., 2003). Referente a su genética, sólo han sido evaluadas sus poblaciones naturales en las cuencas de los ríos Sinú (Santacruz, 2005; Arrieta, 2014), Cauca (López et al., 2004), Magdalena (Aguirre et al, 2013; Orozco, 2014) y en las estaciones piscícolas PezCol, Pez Sinú, Unicor y CVS en la cuenca del río Sinú (Santacruz, 2005; Arrieta, 2014) y Repelón-AUNAP y SENA en la cuenca del río Magdalena (Castañeda, 2012; Muñoz, 2013).

Santacruz (2005) utilizando marcadores microsatélites, evaluó la variabilidad genética de *P. magdalenae* en la población natural del río Sinú y cultivada con fines de repoblamiento en varias estaciones piscícolas del departamento de Córdoba. Sus resultados mostraron el impacto genético de los repoblamientos en esta población, y propone recomendaciones técnicas para redirigirlos con el fin de aumentar la variabilidad genética en la especie.

Castañeda (2012), evaluó la variabilidad genética de reproductores de bocachico en dos centros piscícolas (Estación Piscícola de San Silvestre y de Repelón), demostrando que las poblaciones de *P. magdalenae* en ambas estaciones piscícolas evidencian una variabilidad genética muy baja. Igual resultado fue el encontrado por Muñoz (2013) para el sistema de reproductores de la estación piscícola de Repelón y del SENA Santa Marta, utilizados en los programas de repoblamiento desarrollados en la cuenca del río Magdalena.

Orozco (2014) utilizando marcadores microsatélites, evaluó la estructura genética del bocachico en la cuenca del río Magdalena y sus principales tributarios, reportando la existencia de por lo menos tres poblaciones claramente diferenciadas, resaltando la importancia del comportamiento reproductivo para la estructuración poblacional y el efecto que pueden tener los programas de repoblamiento en la misma.

## **2.2. [MARCO TEÓRICO](#)**

### **2.2.1 Evaluación de las relaciones y diferencias genéticas de los Bocachicos *Prochilodus magdalenae* (Characiformes, Prochilodontidae) que toman dos rutas migratorias en la parte baja de la cuenca del río Magdalena-Colombia** (Julio, Y.P. 2013)

Para evaluar las relaciones y diferencias genéticas de la población de Bocachico asociada a dos rutas migratorias en la parte baja de la cuenca del río Magdalena, se tomaron muestras de tejido en el sector derecho o brazo de Mompós y en el cauce principal del río. Se extrajo ADN a 361 peces, el cual fue amplificado y genotipificado para siete loci microsatélites. Mediante el análisis se pudo observar que todos los loci son polimórficos;

identificando un total de 250 alelos de los cuales 69 son privados. A pesar de que esta población presenta una gran variabilidad genética ( $H_e$ ) y una alta riqueza alélica ( $N_a$ ), se logró evidenciar la existencia de un déficit de heterocigotos. El análisis de desequilibrio de ligamiento no encontró asociaciones aleatorias entre los genotipos de los siete loci lo que permitió realizar los diferentes análisis estadísticos. Eventuales cuellos de botella fueron confirmados en las diferentes localidades muestreadas, evidenciando que alrededor del 50% de estas han ocurrido cambios drásticos en el tamaño poblacional. Se encontró una baja a moderada diferenciación genética en las poblaciones ( $F_{st}=0.02112$  a  $0.13156$ ). En un Análisis Molecular de Varianza se observó que la mayor variación se encuentra dentro de las poblaciones y no entre los grupos. Finalmente la prueba de asignación poblacional muestra un patrón de migración disperso; concluyendo que no existen preferencias por las dos rutas de migratorias.

**2.2.2 Evaluación de la variabilidad y estructura genética de la población silvestre y cultivada de Bocachico *Prochilodus magdalenae* (Characiformes: Prochilodontidae) en la cuenca del río Sinú y en dos estaciones piscícolas del departamento de Córdoba-Colombia.** (Arrieta, 2013) La cuenca del río Sinú se presenta como una de las estrellas hidrográficas más importantes de Colombia. Actividades humanas como la sobrepesca, la ocupación y el uso inapropiado de tierras, y especialmente la construcción de represas que impiden el proceso migratorio hasta los tributarios, han sido identificadas como las principales causas que han impactado la biología, ecología y genética de la población de Bocachico en el país, el objetivo de este estudio fue obtener información sobre la estructura genética de la población natural de *Prochilodus magdalenae* en la cuenca del río Sinú y de la población cultivada utilizada para repoblar, los especímenes fueron recolectados en cinco localidades ubicadas en la cuenca del río Sinú (Caño Grande, La Doctrina, Ciénaga Grande de Lorica, Ciénaga de Betancí y Tierra alta) y en dos estaciones piscícolas del departamento de Córdoba (CVS y CINPIC). La evaluación de la diversidad y estructura genética se realizó mediante el uso de siete microsatélites descritos para el congénere *Prochilodus lineatus*. Se registró un total de 206 alelos entre los 313 individuos de Bocachico para los siete locus microsatélites utilizados, La heterocigosidad observada ( $H_o$ ) varió de 0,019 (PL28) a 0,403 (PL119) con un promedio de 0,24 por locus, mientras que la heterocigosidad esperada ( $H_E$ ) varió de 0,834 (PL28) a 0,926 (PL14) con un promedio de 0,87 por locus. En cuanto a la diferenciación génica entre poblaciones, el análisis de los valores de  $F_{st}$ , AMOVA y pruebas bayesianas, permitió detectar que la población de *P. magdalenae* presente en el río Sinú está subestructurada, conformada por al menos dos poblaciones diferenciadas genéticamente. Adicional a la hipótesis que planteaba que la subestructuración genética de la población, podría estar relacionada con el proceso migratorio y reproductivo de la especie, se sumó una segunda basada en que esa otra población detectada pudo ser producto de la homogenización causada por los repoblamientos realizados en esta cuenca. Este estudio, muestra y confirma como las diferentes actividades antropogénicas han impactado negativamente la integridad genética de la población natural de Bocachico en el río Sinú.

**2.2.3 Evaluación de la estructura genética de la población de bocachico *Prochilodus magdalenae* (Characiformes, Prochilodontidae) en la cuenca del río Magdalena y en**

**sus principales tributarios - Colombia. (Orozco, 2014)** El bocachico es una especie endémica de la cuenca del río Magdalena, Sinú y Atrato. Esta es una especie de gran importancia para la pesca artesanal, representando el 30% de las capturas en la cuenca del Magdalena. Esta importancia socioeconómica contrasta con el estado actual de sus pesquerías, las cuales han evidenciado la disminución de las capturas. Esta disminución puede atribuirse a factores como la sobrepesca, ocupación y uso inapropiado de tierras, y especialmente la construcción de represas que impiden el proceso migratorio hasta los tributarios. Los factores antes mencionados, han puesto en peligro las poblaciones naturales del bocachico con probables consecuencias en su pool genético, el objetivo de este estudio fue evaluar la estructura genética de la población de *Prochilodus magdalenae* mediante el uso de marcadores microsatélites, y así contribuir a la conservación de esta especie. Los especímenes fueron recolectados en 25 localidades río abajo de la represa de Betania y una localidad aguas arriba de dicha represa, en la canal principal del río Magdalena y en tributarios como el río Sogamoso, San Jorge y el Cauca. En total, fueron observados 290 alelos en la población natural de *Prochilodus magdalenae* a través de todos los loci utilizados los cuales variaron entre 33 a 59 para el PL64 y PL119, respectivamente. Este alto polimorfismo, contrasta con la baja heterocigosidad observada en la población la cual varió de 0.19 a 0.33 entre las diferentes localidades muestreadas. La heterocigosidad esperada vario de 0.82 a 0.91. Con respecto a la diferenciación poblacional, a través de los valores de  $F_{st}$ , AMOVA y análisis bayesianos, fue posible detectar la existencia de estructuración poblacional identificando por lo menos tres poblaciones que coexisten y comigran en el área muestreada, a pesar del alto flujo genético presente en la población debido a su comportamiento reproductivo. Los resultados obtenidos se convierte en una herramienta de extrema importancia considerando que esta nos ayuda a entender un poco sobre el comportamiento y biología de esta especie, además que es un insumo importante para el establecimiento de programas de manejo y conservación.

**2.2.4 Establecimiento de dos lotes de reproductores de Bocachico *Prochilodus magdalenae* (Characiformes, Prochilodontidae) utilizando criterios genéticos para obtener progenies con fines de repoblamiento.** (Muñoz, 2013) El Bocachico *Prochilodus magdalenae* es un pez endémico y de importancia económica y cultural en Colombia, pero clasificado en estado vulnerable, debido a impactos promovidos por acciones humanas, este trabajo tuvo el propósito de establecer dos lotes de reproductores de *P. magdalenae* para producir progenies con una alta variabilidad genética con fines de recuperar las poblaciones del medio natural utilizando las estaciones piscícolas de Repelón que pertenece a la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP) y del Centro Acuícola y Agroindustrial de Gaira SENA. Para esto se marcaron 738 ejemplares de *P. magdalenae* presentes en las estaciones piscícolas de Repelón y del SENA, de los cuales 387 fueron machos y 351 hembras. Todos fueron caracterizados con siete loci microsatélites. Los genotipos obtenidos de la tipificación genética de microsatélites de cada pez se utilizaron para hacer la simulación de cruces mendelianos, tomando como base el procedimiento del cuadro de Punnett. Este procedimiento se hizo por estación piscícola mediante el programa computacional Sistema de Información de Reproductores de Peces Nativos con fines de repoblamiento (SIREP). Para valorar el papel de cada reproductor en la producción de progenies de buena calidad genética, en cada cruce se tomaron como referencia los

parámetros genéticos de heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y esperada ( $H_e$ ), y la endogamia ( $F_{is}$ ). Los dos lotes de reproductores evaluados presentaron una  $H_o$  muy baja, siendo 0.267 para los de Repelón y 0.335 para los del SENA; también se observó una consanguinidad ( $F_{is}$ ) global alta de 0.679. A pesar de los resultados anteriores, las progenies esperadas de todos los cruces realizados presentaron una  $H_o > 0.8$  y valores de  $F_{is}$  negativos. Esto indica que los 738 reproductores deben ser tenidos en cuenta para constituir los dos nuevos lotes de reproductores de Bocachico con fines de repoblamiento. En los resultados se indica que peces machos y hembras deberán cruzarse en cada estación para cumplir con los propósitos de calidad genética de la semilla a repoblar. se recomienda renovarlos cruzando estos peces viejos (para conservar la información genética existente) con los nuevos (para introducir nueva información) provenientes del medio natural para mejorar la calidad biológica de los reproductores.

**2.2.5 Evaluación de la calidad genética de sistemas de reproductores de Bocachico *Prochilodus magdalenae* (Pisces: Prochilodontidae) usados para repoblamiento en dos estaciones piscícolas.** (Castañeda, 2012) Debido a la gran cantidad de modificaciones ambientales que ha sufrido el río Magdalena y a la sobrepesca, las poblaciones de Bocachico (*Prochilodus magdalenae*) han mostrado una disminución considerable en su tamaño. Para evitar la extinción de esta especie, las autoridades ambientales de Colombia con ayuda de centros piscícolas vienen implementando varios programas para repoblar la cuenca del Magdalena con semillas de Bocachico. Sin embargo, la implementación de estos programas, viene dándose de manera arbitraria y sin ningún soporte científico que las respalde, el objetivo de esta investigación fue analizar la diversidad genética de lotes de Bocachico utilizados en programas de repoblamiento, mediante marcadores moleculares microsatélites. Se utilizaron 60 reproductores provenientes de dos estaciones piscícolas ubicadas en los departamentos de Magdalena (SENA) y Atlántico (Repelón). Los siete microsatélites utilizados fueron polimórficos, suministrando entre 10 y 35 alelos por locus. La diversidad genética encontrada para los lotes estudiados fue muy baja (SENA  $H_o < 0.1$ ; Repelón  $H_o < 0.13$ ), Mientras que el grado de endogamia en general mostró valores bastante altos ( $F_{is} > 0.8$ ). Es probable que estos resultados encontrados sean producto de un manejo inadecuado de los reproductores. Se discute la necesidad de introducir el criterio genético para mejorar las condiciones genéticas de los reproductores de Bocachico utilizados para el repoblamiento en Colombia que permita garantizar la conservación de la especie.

### 2.3. MARCO CONCEPTUAL

**2.3.1 Cuenca del Río Catatumbo.** El río Catatumbo nace en el departamento Norte de Santander, en la parte oriental de Colombia específicamente en el cerro de Jurisdicciones a 3.850 msnm, en el municipio de Ábrego, al oeste del departamento Norte de Santander y desemboca en Venezuela en el lago de Maracaibo. La subcuenca del río Catatumbo posee un área de 25600 km<sup>2</sup> de territorio compartido entre Colombia y Venezuela, de los cuales, la cuenca alta y parte de la cuenca media se ubican en territorio colombiano con un área de 16565 km<sup>2</sup> que corresponde al 76,5% de la superficie de la subcuenca, en el cual se encuentra inmerso en su totalidad el departamento de Norte de Santander (IGAC 2003).

Presenta paisajes heterogéneos, determinados por un amplio ámbito altitudinal (0 a 4100 m s.n.m.) que permite una gran variedad climática y una precipitación que varía entre 1000 y 4500 mm anuales (Rodríguez et al. 1996). La subcuenca se caracteriza por su complejidad topográfica, incluyendo páramos, altiplanos, cañones, piedemontes y tierras bajas, que le confieren a las aguas características muy variadas (Galvis et al. 1997). La subcuenca del río Catatumbo aporta el mayor volumen de agua dulce al lago de Maracaibo, cerca de 1140000 litros (Alrededor del 60% del total de agua dulce) pero adicionalmente es una fuente de problemas graves de contaminación debido fundamentalmente a derrames de petróleo, plaguicidas organoclorados, diques marginales construidos para el control de las inundaciones y el denominado saneamiento de tierras, la extracción directa de agua para el uso agropecuario (riego), tala de bosques para la extracción de madera y actividades ilegales de grupos armados, entre otros (Rodríguez 2000; Colonnello y Lasso-Alcalá, 2011).

En este sistema se reconocen cuatro microcuencas, la principal la del río Catatumbo compuesta por los ríos Catatumbo, Tarra colombiano y Socuavó, Orú, San Miguel y río De Oro; microcuencas del río Sardinata compuesta por los ríos Sardinata, Tibú y Nuevo Presidente que confluyen para formar el río Tarra venezolano; microcuena del río Zulia por los ríos Zulia, Arboledas, Cucutilla, Peralonso y Salazar y por último la microcuena del río Pamplonita compuesta por los ríos Pamplonita y Táchira (Galvis et al. 1997, IGAC 2003). A pesar del tamaño reducido de la subcuenca, por su complejidad, la riqueza por unidad de área es alta. Esta condición ha llamado la atención desde el punto de vista biogeográfico, sin embargo son muy pocos los estudios referidos específicamente al río Catatumbo, debido a un largo historial de problemas de orden público (actividades ilegales de grupos armados) que no permitieron acceder a la porción colombiana de la subcuenca por varias décadas.

**Figura 1 Mapa de los ríos continentales que drenan al lago de Maracaibo**



Fuente: Región Occidental- UAH. Disponible en: <<http://regionoccidental-uah.blogspot.com/2014/11/cuencas-hidrograficas.html>>

**2.3.2 Generalidades del bocachico *Prochilodus reticulatus*.** El bocachico es un pez de cabeza roma, ojos grandes, cuerpo alargado y comprimido lateralmente con una longitud estándar de 206 a 248 mm, aunque puede crecer hasta 400 mm. Su coloración es gris iridiscente en el dorso y plateada en la sección lateral con bandas transversales oscuras, el vientre es rosado y la aleta dorsal tiene una serie de manchas pequeñas y oscuras. Los radios medios de la aleta caudal son oscuros con su parte distal rosada, al igual que extremos de las aletas pectorales, pélvicas y anales. Posee escamas ásperas de tipo cicloideo, pequeñas, y una espina predorsal bifurcada propia del género (escama modificada y endurecida). A pesar de poseer numerosas espinas intramusculares es muy apetecido (Castro,1999). Presenta la boca en posición terminal de tipo protractil con numerosos dientes diminutos de tipo villiforme localizados en la circunferencia de los labios, en una segunda hilera de dientes en forma de V sobre la premaxilar y la mandíbula (Gery, 1977; Castro, 1999).

**Figura 2 Bocachico *Prochilodus reticulatus***



Fuente: Autor del proyecto

### **2.3.2.1 Clasificación Taxonomía Bocachico del Catatumbo.**

PHYLUM: Cordado

SUBPHYLUM: Vertebrados

INFRAPHYLUM: Gnathostomata

SUPERCLASE: Osteíctios

CLASE: Actinoptergios

ORDEN: Characiformes

FAMILIA: Prochilodontidae

SUBFAMILIA Prochilodontinae

GENERO: *Prochilodus*

NOMBRE CIENTIFICO: *Prochilodus reticulatus* Valenciennes, 1850.

**2.3.2.2 Biología del Bocachico *P. reticulatus*.** Los peces del orden Characiforme, dominan las aguas dulces continentales suramericanas, en donde se han diversificado en multitud de formas que ocupan un amplio rango de nichos ecológicos. En la cuenca del río Catatumbo, el *Prochilodus* spp. (Bocachico), constituye el 70% de la captura, estos ejemplares alcanzan su madurez sexual a los 10 meses de edad, con una longitud total promedio de 26-29 cm, con una longitud estándar de 23-24 cm con un número de escamas de 40-42 cm con un peso promedio de 400 gramos en las hembras en promedio tienen un desove en promedio de dos litros y en los machos de 500 gramos, en promedio, con un número de escamas en la línea lateral de 42-43.

Schultz menciona que el bocachico del Catatumbo no sobrepasa los 35 cm de longitud estándar en individuos adultos, presenta una coloración uniforme tanto en el cuerpo como en sus aletas. La morfometría es un importante indicador ecológico y biológico en peces porque mide la adaptación de una especie a su ambiente y se puede utilizar para potenciar su eficiencia biológica en ambientes cerrados (Gatz 1979, Watson y Balon 1984), que permite identificar el umbral de crecimiento mediante caracteres morfométricos (Kováč et al. 1999)

**2.3.3 Marcadores microsatélites.** Los microsatélites son secuencias simples repetidas (SSR, *Simple Sequence Repeats*), compuestas por la repetición de grupos de uno a cuatro nucleótidos. Son estructuras frecuentes en los genomas y se distribuyen aleatoriamente. Esto permite una amplia cobertura del genoma eucariote (Ferreira y Grattapaglia, 1998). Recientemente, se ha reportado que el número de nucleótidos de las repeticiones puede variar entre uno y ocho (Alam y Islam, 2005). Generalmente cada bloque de repeticiones es menor que 100 pares de nucleótidos.

Este tipo de marcador, se torna ideal para el mapeo genético y físico de genomas, para la identificación y discriminación de genotipos y para estudios de genética poblacional. En biología molecular, los SSR son los marcadores que tienen el más elevado contenido de información de polimorfismo por *locus*, siendo útiles en la detección de altos niveles de variación y de alelos raros (Alam y Islam, 2005; Ferreira y Grattapaglia, 1998).

Cuando las secuencias repetitivas de ADN (Acido desoxirribonucleico) están localizadas en regiones de copia única pueden ser analizadas por la técnica de PCR (Reacción en cadena de polimerasa), con el empleo de primers específicos, complementarios a las secuencias conservadas que los rodean (Regitano, 2001b). El uso de estos primers, permite obtener marcadores unilocales, altamente polimórficos y de herencia codominante (Regitano, 2001a). Algunos microsatélites tienen un gran número de alelos (>20 alelos por *locus*), lo que los hace útiles para aplicaciones como identificación de paternidad en poblaciones complejas. En cambio, microsatélites con un número menor de alelos son más apropiados para estudios de genética poblacional y filogenia. Diversos estudios demuestran que este tipo de marcador es ideal para reportes de diversidad genética en organismos acuáticos (Yan et al., 2005). Los microsatélites se consideran los marcadores más eficientes para revelar altos niveles de variación alélica y permiten frecuentemente detectar diferencias entre poblaciones íntimamente relacionadas. Es así como, el polimorfismo obtenido por

marcadores microsatélite se ha convertido en una poderosa herramienta para el manejo de lotes en acuicultura (Alam y Islam, 2005), para el análisis poblacional y para la conservación de la biodiversidad (Romana-Eguia et al., 2004).

Un aspecto genético que debe considerarse cuando se trabaja con marcadores moleculares son los alelos nulos. Estos son alelos que no amplifican en algunos de los individuos muestreados debido a mutaciones en alguna de las secuencias de *primer* y generalmente no se reconocen cuando se amplifica otro alelo, lo que puede llevar a sobreestimar la homocigosidad y a una aparente incompatibilidad de los genotipos dentro de una familia. Se han identificado en polimorfismos de proteínas y más recientemente en marcadores VNTRs. Hasta el momento no hay patrones definidos en la ocurrencia de alelos nulos; pueden presentarse cuando se realiza amplificación cruzada entre especies diferentes, así como en las especies de las cuales ha sido clonado el microsatélite (Pemberton et al, 1995; Callen et al, 1993).

Los alelos que no amplifican pueden ser revelados disminuyendo la temperatura de alineamiento del *primer* o rediseñando los *primers*. Para disminuir la probabilidad de ocurrencia es preferible que los *primers* estén ubicados lejos del lugar de repetición del microsatélite, ya que una hipótesis para la presencia de alelos nulos es que la secuencia adyacente al microsatélite puede acumular mutaciones por los eventos de actividad de la polimerasa (Callen et al, 1993).

**2.3.4 Cuello de botella.** Los cuellos de botella constituyen una reducción severa en el tamaño poblacional que puede incrementar las tasas de endogamia, la pérdida de la variación genética y la fijación de alelos deletereos. Por esto mismo se genera una reducción del potencial evolutivo y aumenta la probabilidad de extinción. Entre más pronto se detecte mayor será la probabilidad que se eviten estos efectos deletereos mitigándolos con procedimientos de manejo como introducción de migrantes (Luikart et al, 1998).

Los cuellos de botella causan una distorsión característica en la distribución de las frecuencias alélicas en loci selectivamente neutrales. Los alelos de baja frecuencia (<0.1) son menos abundantes que los alelos en otra clase de frecuencia después de un cuello de botella, puesto que se pierden con mayor rapidez. Esta distorsión es transitoria y sólo se puede observar por una docena de generaciones (Luikart et al, 1998).

Para probar la presencia de un cuello de botella reciente (CBR) Luikart y colaboradores (1998) diseñaron un método gráfico cualitativo que compara la distribución alélica de las frecuencias observada en una población que se sospecha haya tenido CBR con una población que no tenga cuello de botella reciente, es decir una población cercana al equilibrio mutación-deriva. Si este test falla en detectar el cambio de moda en la distribución de las frecuencias alélicas uno solo puede concluir que el cuello de botella no es probable que haya ocurrido en el pasado reciente (Luikart et al, 1998).

Otro método para detectar cuellos de botella reciente (Cornuet y Luikart, 1996), se basa en

la detección de un exceso de heterocigotos mediante un test de Wilcoxon. Según estos autores, cuando una población experimenta una reducción de su tamaño, se produce una reducción progresiva del número de alelos ( $N_a$ ) y de la Heterocigosidad esperada ( $He$ ). Sin embargo  $N_a$  se reduce más rápido que  $He$  ocasionando un déficit de  $N_a$  transitorio y en consecuencia un exceso de  $He$ . De esta manera en un CBR la heterocigosidad es mayor que la calculada con base en el número de alelos presente en la muestra actual bajo el supuesto de equilibrio mutación deriva ( $Heq$ ).

## 2.4 MARCO LEGAL

Resolución N° 0942 del 24 julio de 1974

INDERENA

Varias especies; *Colossoma sp.* *Arapaima gigas* *Brachyplatystoma sp.* *Crenicichla sp.* *Pimelodus ornatus* *Hydrolicus scomberoides* *Sorubim lima* *Astronotus ocellatus* *Cichla spp* *Prochilodus spp* *Phractocephalus spp* *Osteoglossum bicirrhossum* *Myloplus sp.* *Brycon sp.* *Salminus sp.* *Pseudoplatystoma spp* Por la cual se prohíbe la captura, transporte y comercialización de peces aptos para el consumo humano, en estado de alevinos o juveniles, actualmente explotados como peces ornamentales Teniendo en cuenta que captura de peces aptos para consumo humano en estado juvenil, para ser comercializados como peces ornamentales, representa una amenaza de extinción de tales especies por sobre pesca, la norma prohíbe la captura, el transporte y la comercialización aproximadamente 19 especies de peces identificadas como especies de consumo humano.

Resolución N° 0842 de 1962,

Ministerio de Agricultura.

Todas las especies. “Por la cual se reglamentan las dimensiones de los chinchorros o trasmallos, atarrayas y cóngolos para la pesca en aguas dulces”.

Deroga las Resoluciones N° 117 de 1956 y 18 de 1961.

Resolución N° 999 de 1969,

INDERENA.

Todas las especies. “Por la cual se dictan medidas sobre pesca fluvial”.

Ajusta las dimensiones de los chinchorros para la pesca en los ríos Magdalena, San Jorge, Sinú y sus afluentes y mantiene vigente los demás aspectos relacionados con la pesca y el uso de los artes de pesca reglamentados por el Ministerio de Agricultura.<sup>26</sup>

Resolución N° 0267de 1971,

INDERENA

Todas las especies. “Por la cual se modifica la Resolución 025 del 27 de enero de 1971” del INDERENA La modificación se relaciona con el uso del chinchorro dentro de la hoya hidrográfica del río Magdalena.

Resolución N° 0268 de 1971,

INDERENA.

Todas las especies. “Por la cual se permite el uso del chinchorro en la hoya hidrográfica del río Magdalena”. El uso del chinchorro, queda limitado únicamente a los cauces principales de los ríos: río Magdalena río Cauca, y río San Jorge en unas zonas definidas.

Resolución N° 1087 de 1981,

INDERENA

*Paulicea lutkeni Brachyplatystoma juruense Brachyplatystoma platynema Pinirampus pinirampu Brachyplatystoma vaillanti Prochilodus sp. Colossoma brachypomus Phractocephalus hemiliopterus Ageniosus sp. Colossoma macropomum Brachyplatystoma flavicans Callophysus macropterus Plagioscion spp Sorubimichhys planiceps Mylossoma spp Hydrolicus scomberoides Pseudoplatystoma sp. Semaprochilodus laticeps Familia Doradidae Oxydoras niger Brycon sp. Leiarius marmoratus.*

“Por la cual se reglamentan las tallas mínimas de peces de consumo, los artes y los métodos pesqueros en la Cuenca del río Orinoco”.

Acuerdo N° 0014 de 1987,

INDERENA

*Prochilodus reticulatus, Triportheus magdalenae, Pimelodus clarias, Leporinus muyscorum, Hoplias malabaricus,* “Por el cual se reglamenta la pesca y su aprovechamiento en el embalse del Guájaro (Atlántico)”.

Acuerdo N° 10 del 10 de septiembre 2002

INPA

Recursos pesqueros de consumo Por la cual modifica el Acuerdo N° 000013 del 14 de diciembre de 1999, de la Junta directiva del INPA, en el sentido de ampliar las áreas de reserva para la conservación y el manejo especial y se implementa una veda temporal para la conservación del recurso pesquero en la cuenca del río Sinú Con base en los estudios realizados por la universidad de Córdoba, “Estimación del ictioplancton en el río Sinú aguas arriba y debajo de la presa” se concluyó que el desove de los peces reofilicos se viene dando desde el sitio de la presa hasta Carrizola (45 km aproximadamente), considerándose

esta como el área de reproducción más importante para el recurso pesquero, del río CATÁLOGO DE LOS RECURSOS PESQUEROS CONTINENTALES Norma Área de manejo Decisión Observaciones Sinú, se recomienda y propone ampliar el área de reserva en 12 km. (sitio presa a Pasacaballos) a 40 km. (sitio Presa a Carrizola). En cuanto al área de manejo especial ésta quedaría comprendida entre Carrizola (40 Km. Del sitio de la Presa) y Gallo Crudo (a 118 km. del sitio de Presa).

Adicionalmente se propone establecer una veda temporal de los recursos pesqueros durante el período reproductivo de las principales especies entre el 15 de abril al 30 de julio de cada año.

En consonancia con lo anterior la norma prohíbe durante el período de la veda el almacenamiento (acopio) procesamiento, comercialización y transporte de especies de consumo en la cuenca del río Sinú.

### 3. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1 METODOLOGIA PROPUESTA

**3.1.1 Tipo de investigación.** Se realizó un estudio de tipo experimental aplicada que tuvo una duración aproximada de seis meses con el fin de evaluar la estructura genética de la población de *Prochilodus reticulatus* asociada a la cuenca del río Catatumbo, con amplificación por PCR utilizando marcadores Microsatélites en el Laboratorio de Genética Molecular de la Universidad del Magdalena.

**3.1.2 Población.** La población objeto de estudio fue la especie de Bocachico *Prochilodus reticulatus* asociada a la cuenta del río Catatumbo y dos centros piscícolas dedicados a la repoblación en la región.

**3.1.3 Muestra.** Para el desarrollo de la caracterización molecular de la especie de *Prochilodus reticulatus* se recolectaron 2cm de aleta caudal por cada localidad 40 el ríos Algodonal , 40 muestras para el río Sardinata, 41 muestras para el río Zulia 41 muestras para el río Pamplonita, 46 muestras en el centro piscícola los Alcarabanes y 55 muestras en el centro piscícola de Corponor dedicados a la repoblación en el departamento del Norte de Santander, para un total de 263 muestras utilizadas para la evaluación de la variabilidad genética de la especie objetivo.

#### 3.2 LOCALIZACION

El Laboratorio de Genética Molecular de la Universidad del Magdalena, se encuentra ubicada en Santa Marta capital del Departamento del Magdalena cuyas coordenadas geográficas son Latitud Norte 11° 13' 18", Longitud Oeste 74° 11' 11" con relación al Meridiano de Greenwich.

**Figura 3 Fotografía espacial de la Universidad del Magdalena**



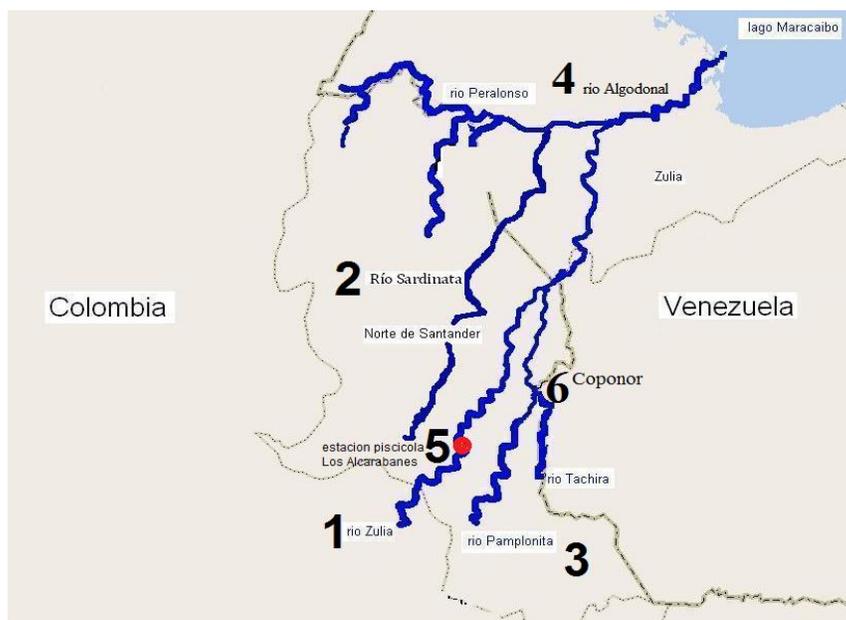
Fuente: Universidad del Magdalena.

### 3.3 METODOLOGÍA

Para la realización y ejecución del proyecto se utilizaron herramientas moleculares con microsatélites heterólogos de la misma familia de la especie *Prochilodus lineatus*, que amplificaron para seis microsatélites que fueron la base para la evaluación de la variabilidad genética de la especie de Bocachico propia de la cuenca del río Catatumbo. Para esto a continuación se especifica cada uno de los procesos que se llevaron a cabo para la ejecución de la parte práctica del proyecto.

**3.3.1 Área de estudio: Localidades de recolecta, obtención y procesamiento del material biológico.** Las muestras fueron recolectadas en diferentes localidades del medio natural en la cuenca del río Catatumbo y en dos estaciones piscícola encargadas de la repoblación en esta cuenca en el departamento del Norte de Santander (Tabla 1). Con el apoyo de la flota pesquera artesanal, se recolectaron cerca de 41 individuos para el río Zulia, 40 para el río Sardinata, 41 para el río Pamplonita, 40 para el río Algodonal del medio natural muestreada en la cuenca del río Catatumbo, para un total de 162 muestras. De igual forma se tomaron 46 en el centro piscícola Alcarabanes y 55 muestras del centro piscícola de Coponor del actual sistema de reproductores de *Prochilodus reticulatus*. De cada individuo, se cortará una porción de aleta caudal (dos cm<sup>2</sup> aproximadamente) y se fijarán en alcohol etílico al 96 % en tubos eppendorf de 1.5 mL. Posteriormente, las muestras fueron transportadas al Laboratorio de Genética Molecular de la Universidad del Magdalena para su procesamiento.

**Figura 4 Localización de los puntos de recolecta de muestras de tejido en individuos de *Prochilodus reticulatus*. Los números representan las localidades a muestrear (Tabla 2)**



Fuente: Wikipedia, Río Catatumbo. Disponible en; [http://es.wikipedia.org/wiki/R%C3%ADO\\_Catatumbo](http://es.wikipedia.org/wiki/R%C3%ADO_Catatumbo)

**Cuadro 1 . Localidades de recolección de muestras de aleta caudal de *Prochilodus reticulatus*.**

N	Sigla	Localidad	Coordenadas Geográficas
1	ZU	Río Zulia	12,412mm
2	SA	Río Sardinata	8,1415mm
3	PA	Río Pamplonita	7,317mm
4	AL	Río Algodonal	2,730000mm
5	CPA	Centro Piscícola Los Alcarabanes	7,863mm
6	CO	Corponor	7,914mm

Fuente: Autor del proyecto

### **Extracción y cuantificación de ADN**

Extracción de ADN de tejido no invasivo: Aleta Caudal. La extracción se muestra a continuación:

El ADN se extrajo de las muestras de aleta caudal de cada individuo fijado en alcohol etílico (96%) Se utilizó el protocolo: **Precipitación con Acetato de Amonio (Gibea)**. El protocolo de extracción fue el siguiente:

En un tubo de eppendorf de 1.5 µl previamente esterilizado y rotulado con el nombre de la localidad y enumerado en orden con números arábigos se adicionó 300 µl de solución lisis celular. Y se agregó aproximadamente 0.5 cm<sup>2</sup> de aleta caudal, fragmentado de la muestra inicial que se recolectó en el medio natural y centros piscícolas el cual se sigue conservando en el refrigerador.

Se adicionó 1 µl de proteinasa K.

Se incubó a 56°C durante dos horas.

Se agitó cada tubo con vortex durante cinco minutos.

Se adicionó 500 µl de acetato de amonio y se agitó vigorosamente con vortex durante diez segundos.

Se centrifugó a 13.000 rpm durante quince minutos con el propósito de separar el ADN de las proteínas y otros residuos.

Se Transfirió 620 µl del sobrenadante obtenido a un tubo nuevo previamente esterilizado. Esta solución contenía el ADN extraído, el otro tubo con los residuos de proteinasa fue descartado.

Se adicionó 500 µl de Alcohol Isopropílico y se agitó por inversión 30-40 veces.

Se incubó durante 15 horas a -20°C.

Se centrifugó a 13.000 rpm durante 15 minutos para la precipitación del ADN.

Se retiró el alcohol Isopropílico cuidadosamente sin agitar el tubo, este paso se realizó por decantación.

Se adicionó 500 µl de alcohol etílico al 70% para limpiar el ADN precipitado y se centrifugó a 13.000 rpm durante dos minutos para ayudar a limpiar bien el tubo.

Se Retiró el alcohol etílico al 70% cuidadosamente, este paso se realizó por decantación.

Se dejó secar el tubo completamente.

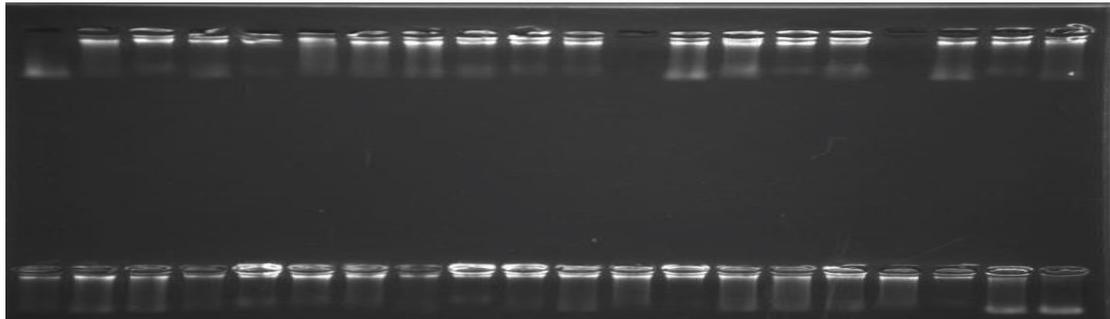
Se agregó 35 µl de solución TE *buffer* para resuspender el ADN.

Se almacenó el ADN extraído a una temperatura de -20°C en Rack para tubos de eppendorf de 1.5 µl.

La verificación de la calidad de ADN obtenido se realizó mediante electroforesis horizontal con gel de agarosa al 0.8%, agente de tinción con gel red (1µl) y corrido a 80 voltios durante 30 minutos (Narváez, 2006). La visualización del gel se realizó en un fotodocumentador *Biodoc VP LLC* con trasiluminador de luz ultravioleta.

En los geles de agarosa se sembraron siempre secuencias de 40 muestras debido a que los peines formas 20 posos en la parte superior y 20 posos en la parte media del gel, a la cámara que contiene el gel se les adicionó TAE Tris ((hidroximetil)-aminometano), Acetato y EDTA (Ácido Etilendiaminotetraacético) como agente electrolítico con iones positivos y negativos que actúan sobre el gel que está hecho de lo mismo y permiten que el ADN migre sobre el gel y salga de los posos y pueda desplazarse para ser observado a través del fotodocumentador, de esta manera podemos determinar la calidad del ADN.

**Figura 5 Verificación del resultado de ADN en gel de Agarosa al 2% con electroforesis horizontal.**

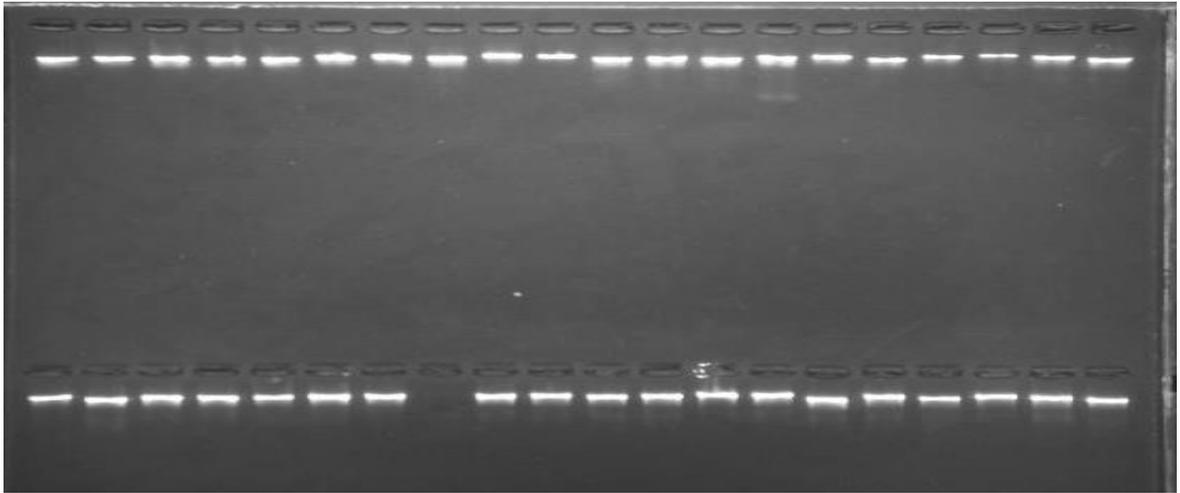


Fuente: Autor del proyecto.

### Amplificación y genotipificación de microsatélites

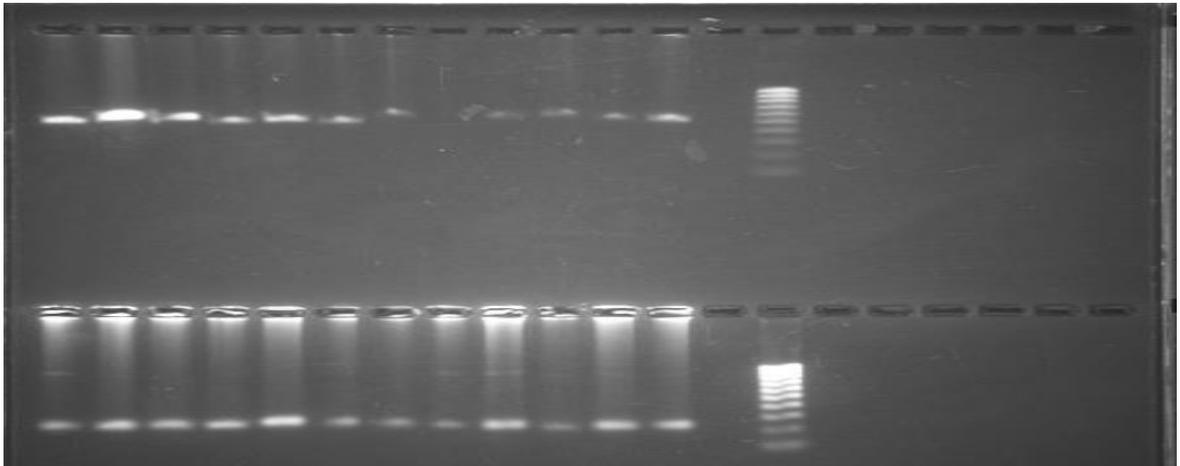
Se amplificarán seis *loci* microsatélites específicos de *Prochilodus lineatus* propuestos por Rueda et al. (2011), seleccionándose los más polimórficos, cuya amplificación cruzada fue positiva para otras especies del género como *P. argenteus*, *P. mariae*, *P. nigricans* y *P. magdalenae*.

**Figura 6 Verificación del resultado de ADN en gel de Agarosa al 2% con electroforesis horizontal de la PCR.**



Fuente: Autor del proyecto.

**Figura 7 Verificación del resultado de la verificación de ADN en gel de Agarosa al 2% con electroforesis horizontal de la PCR con escalera de *Hiperlade IV*.**



Fuente: Autor del proyecto.

**Cuadro 2. Locus microsatélites que se utilizarán en los análisis poblacionales de *Prochilodus reticulatus* en cuatro localidades de la cuenca del río Catatumbo y en dos estaciones piscícolas (Corponor) y (Los Alcarabanes) del departamento de Norte de Santander.**

Locus	Repeticiones	Secuencia del <i>primer</i> (5'-3')	Ta (°C)	Tamaño (pb)
PL14	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'- TGCCCAACACTGAAACTGAG -3'	61 °C	108-124
		R: 5'- CTCATCAACCTGCCTGGAAT -3'		
PL23	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'- TTGGCTACTTCCCCAAACAC -3'	59 °C	224-252
		R: 5'- GGGGAACTAGTTTGACGATGC -3'		
PL28	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'- GAAGCTTGGGCTCTTGACAT -3'	59 °C	231-249
		R: 5'- CGTTTGCCTCTAGCCTTTTG -3'		
PL34	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'- GAGCGGATTCTCCACATGAT -3'	56 °C	182-202
		R: 5'- TAATGTGCTCCCTCCCACAG -3'		
PL64	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'- AGAGCAACACAGGGAGGAGT- 3'	62 °C	164-208
		R: 5'- ACGCTCTGCTCAGCCATACT- 3'		
PL119	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'- GAAAAAGGCTAGGGGACTGG- 3'	58 °C	151-179
		R: 5'- GAGGAAAAT TGCCTT TTGTAGG- 3'		

Ta: Temperatura de alineamiento; pb: estimación de variación en el tamaño de los alelos por pares de bases.

Fuente: Autor del proyecto

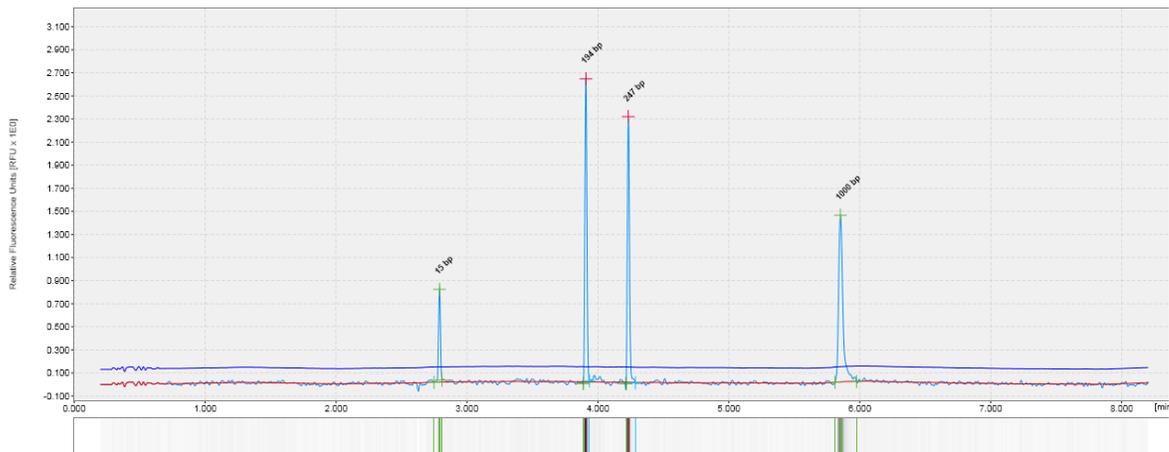
El polimorfismo de los microsatélites se analizó a través de una PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) para los individuos capturados en el tramo desde el río Zulia del municipio del Zulia, pasando por el río Sardinata, el río Pamplonita hasta la vereda del Aserrió en el río Algodonal que desembocan en la cuenca del río Catatumbo. Las amplificaciones se realizaron en un termociclador TC-4000 en un volumen de 10 µl en los cuales se utilizará 200 µM de dNTPs, 1X PCR *buffer*, 0.2 µM de cada *primer*, 2 mM de MgCl<sub>2</sub> y 0.25 U de *Taq* polimerasa (Bioline) (Rueda et al., 2011; Orozco, 2014). Las condiciones de amplificación serán: desnaturalización inicial a 94 °C por 5 minutos, seguido de 30 ciclos a 94 °C (30s), temperatura de alineamiento de cada *primer* (50-62 °C) durante (30 s), 72 °C (30 s), y una extensión final a 72 °C durante 10 minutos.

Los productos de PCR fueron verificados por electroforesis horizontal en un gel de agarosa (concentración 2%), agente de tinción gel red (1.µL) y se revelaron en un fotodocumentador *BIO-DOC System (UVP)*.

Para el estudio del *Prochilodus reticulatus* se corrió en el gel de agarosa al 2% una escalera como referente para determinar el número de los pesos de las pares de bases para cada uno de los primer's con *Hiperlade IV* sembrando en los posos de la siguiente manera 5  $\mu$ L de *Hiperlade IV* y 2  $\mu$ L gel red ubicado en el último posos del gel, y el restante fue sembrado de la siguiente manera 1,5  $\mu$ L de ADN y 1.  $\mu$ L gel red y corriendo a 90 voltios por una hora y 30 minutos siendo esta la verificación inicial luego para el resto de las localidades de sembraba con las mismas cantidades de ADN (1,5  $\mu$ L) y de gel red (1.  $\mu$ L) con la salvedad de que el gel corre con las mismas revoluciones (90) en quince minutos, con el objetivo de verificar cada una de las muestras con respecto a los primer's utilizados en la fragmentación del ADN para encontrar los microsátélites necesario para el desarrollo de la investigación.

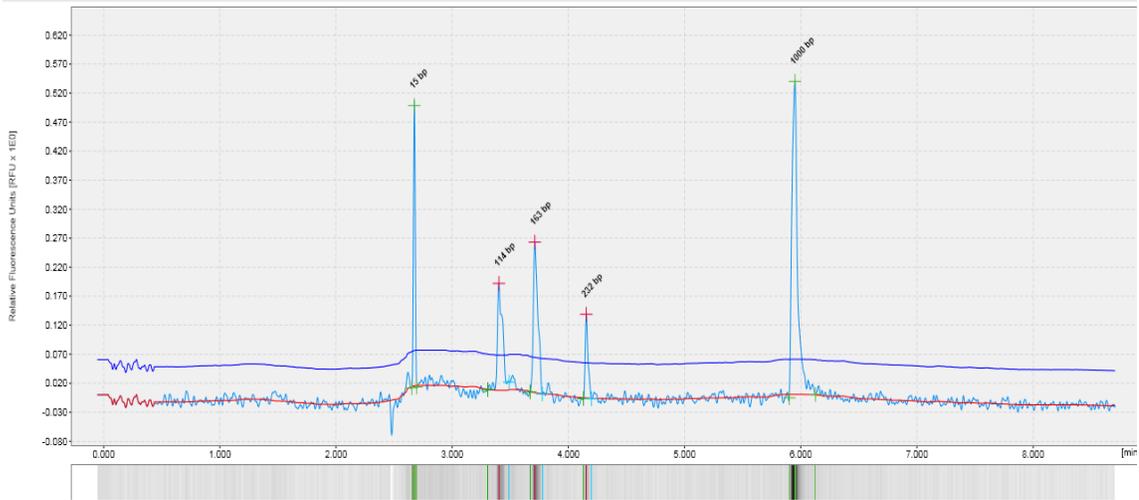
Los productos obtenidos de la amplificación, se observaron por electroforesis capilar QIAxcel Advance (QIAGEN), utilizando Kit's de alta resolución (*High Resolution Kit QIAGEN*) y un marcador de peso con concentraciones de ADN conocidas (*DNA Size Marker 50-800 v2.0*). El tamaño de cada amplificado se determinó con el programa QIAxcel ScreenGel v1.0, que permitió cuantificar el peso de cada banda, determinando los tamaños de los alelos y distinguiendo los individuos homocigotos (el mismo número de alelos) y de los heterocigotos (diferentes número de alelos).

**Figura 8 Resultado de la genotipificación del locus PL28 y PL 34 para un individuo, utilizando el programa QIAxcel ScreenGel v1.0. Todas las muestras corrieron junto a un marcador de alineamiento entre 15 y 1000 pares de base (DNA Aligment Marker).**



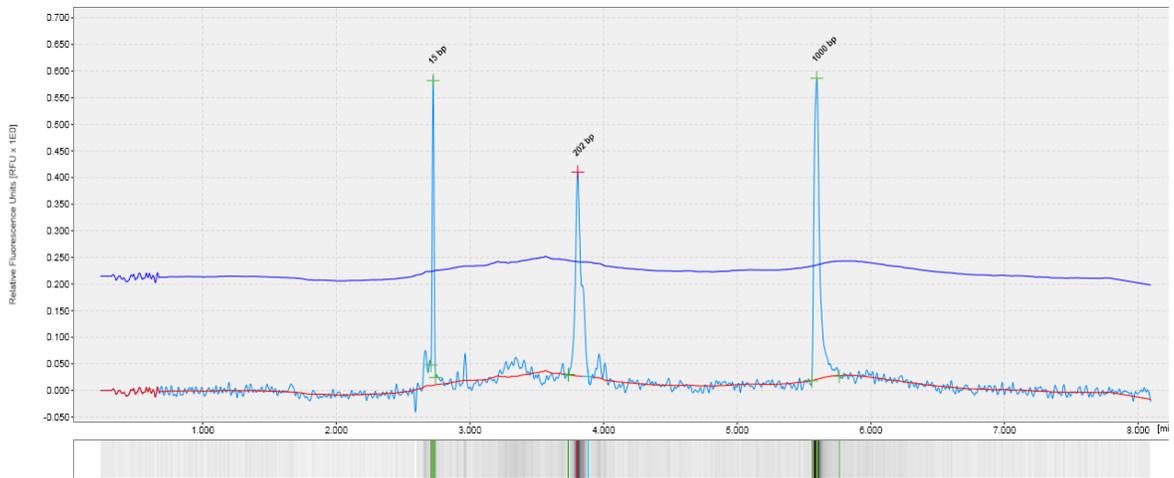
**Fuente: autor del proyecto.**

**Figura 9** Resultado de la genotipificación del locus PL14, PL23 y PL119 para un individuo, utilizando el programa QIAxcel ScreenGel v1.0. Todas las muestras corrieron junto a un marcador de alineamiento entre 15 y 1000 pares de base (DNA Alignment Marker).



Fuente: Autor del proyecto.

**Figura 10** Resultado de la genotipificación del locus PL64 para un individuo, utilizando el programa QIAxcel ScreenGel v1.0. Todas las muestras corrieron junto a un marcador de alineamiento entre 15 y 1000 pares de base (DNA Alignment Marker).



Fuente: Autor del proyecto.

### 3.4 RESULTADOS

Durante los meses de mayo, junio y julio de 2014 se colectaron 263 muestras de individuos de *P. reticulatus* provenientes de la cuenca del río Catatumbo en el departamento del Norte de Santander en seis localidades, cuatro del medio natural y dos de centros piscícolas de esta región, estas muestras fueron obtenidas gracias a la ayuda de los pescadores quienes interesados por aportar en la investigación desinteresadamente prestaron el producto de su pesca para la extracción de la muestra de dos centímetros de aleta caudal para los tributarios y la colaboración del centro piscícola de Corponor bajo el permiso del ANLA y la colaboración del propietario del centro piscícola Alcarabanes, estas muestras fueron tomadas en época de lluvias los peces se encontraban en etapa adulta presentando madurez sexual en un 90% para todas las localidades mencionadas anteriormente.

Para la localidad del río Algodonal no fue posible colectar las muestras en las fechas programadas, principalmente a la escasez de la especie en esta zona, debido al derrame de crudo al río por esos días que impidió la toma de muestras ya que no se encontraban peces, las pescas fueron nulas, por tal razón se espero alrededor de 20 días para trasladarse nuevamente esta localidad donde fueron exitosas las colectas.

**Tabla 1. Muestras de *P. reticulatus* colectadas, sometidas a extracción y resultados positivos para extracción clasificadas por localidad. Se indica el porcentaje de éxito en la extracción (%).**

localidades	SILVESTRE				CAUTIVO		TOTAL
	Algodonal	Pamplonita	Sardinata	Zulia	Alcarabanes	Corponor	
muestreo	40	41	40	41	46	55	
extracción	40	41	40	41	46	55	
Positiva	40	41	40	41	46	55	
%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	
<b>Total</b>	40	41	40	41	46	55	<b>263</b>

Fuente: Autor del proyecto.

Se organizó una matriz final de datos a través de la tipificación que conserva el genotipo de 263 individuos de *Prochilodus reticulatus* muestreados en seis localidades, cuatro del medio natural de las subcuencas principales que drenan al río Catatumbo y dos centros piscícolas del departamento del Norte de Santander una privada y otra de carácter gubernamental (tabla 1), tomando en cuenta los seis *loci* microsatélites utilizados para la especie donde se realizó los análisis.

#### **3.4.1 Polimorfismo de los *loci* microsatélites y diversidad genética global (Objetivo 1)**

A nivel general todos los *loci* microsatélites utilizados fueron polimórficos (100%) en la población natural y cautiva de *P. reticulatus*. Un total 78 de alelos fueron encontrados en

los 263 individuos de bocachico con una media de  $13 \pm 4,2$  alelos/locus. El locus microsatélite Pl 64 fue el que evidenció el mayor polimorfismo con 20 alelos, seguido por Pl 23, Pl 119, Pl 34, Pl 28 y Pl 14 con (15, 14, 11, 9 y 9 alelos) respectivamente. Con respecto a la heterocigosidad esperada (He) y observada (Ho), la primera presentó una media de  $0,844 \pm 0,06$  por locus, variando de 0,774 (Pl 28) a 0,927 (Pl 64). Con relación al segundo parámetro éste mostró un promedio de  $0,112 \pm 0,09$  por locus fluctuando de 0,015 (Pl 28) a 0,232 (Pl 119). Cabe resaltar que el índice de endogamia (Fis) más alto lo evidenció el locus Pl 28 con un valor de 0,980 (tabla 4).

Los tamaños de los alelos para la población de *P. reticulatus* oscilaron de 108 a 124 pb de para el locus (Pl 14) de 224 a 252 pb para el locus (Pl 23); de 231 a 249 pb (Pl28); de 182 a 202 pb (Pl 34); de 164 a 208 pb (Pl 64); de 151 a 179 pb (Pl 119) y (tabla 1).

**Tabla 2. Número de alelos/locus (Na), heterocigosidad esperada (HE) y observada (HO) e índice de endogamia (Fis) obtenidos para los seis loci microsatélites en 263 individuos de *P. reticulatus* muestreados en cuatro localidades del medio natural en la cuenca del**

<b>Locus</b>	<b>Na</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>	<b>Fis</b>
PL14	<b>9</b>	0,838	0,046	0,945
PL23	15	0,895	0,034	0,962
PL28	<b>9</b>	<b>0,774</b>	<b>0,015</b>	<b>0,980</b>
PL34	11	0,775	0,194	0,749
PL64	<b>20</b>	<b>0,927</b>	0,152	0,836
PL119	14	0,857	<b>0,232</b>	0,729
<b>Total</b>	<b>78</b>	<b>0,844 ± 0,06</b>	<b>0,112 ± 0,09</b>	<b>0,867 ± 0,11</b>

Fuente: Autor del proyecto.

### **Diversidad genética en las diferentes localidades Analizadas**

De los 78 alelos encontrados en la población de *P. reticulatus* entre las seis localidades analizadas se evidenció 10 alelos únicos (que solo aparecen en una sola localidad) distribuidos en todas las localidades estudiadas. El alelo 108 (Pl 14) del centro piscícola de Corponor fue el que presentó la mayor frecuencia (0,127). El mayor acontecimiento de alelos únicos estuvo presente en el centro piscícola (Corponor) con tres alelos, seguido de Zulia y algodonal con dos alelos, el resto de localidades solo presentaron un solo alelo (tabla 5).

Con respecto a la heterocigosidad esperada (He) y observada (Ho) en las seis localidades, estos parámetros fluctuaron entre 0,708 (Algodonal) a 0,820 (Zulia) para la primera y de 0,075 (Sardinata) a 0,171 (Algodonal) para la segunda respectivamente. Con relación al índice de endogamia (Fis) estos valores variaron de 0,749 (Algodonal) a 0,908 (Sardinata) (Tabla 6)

## **Equilibrio de Hardy- Weinberg**

Se comprobó a través de la prueba de Guo y Thompson (1992) que la población *P. reticulatus* en las seis localidades no se encuentran en el EHW ( $P < 0.0001$ ), debido a un déficit de heterocigotos ( $p < 0.0001$ ; a partir del test U; (Rousset y Raymond, 1995). Para el caso de la prueba exacta de Fisher, también se presentó una desviaciones tanto con el test multilocus ( $p < 0.0001$ ) como con el multipoblacional ( $p < 0.0001$ ). Por lo tanto, la hipótesis nula de apareamiento al azar que plantea el modelo fue rechazada para la población de *P. reticulatus*. Por medio de este análisis se explicó el por qué el índice de endogamia mostró valores positivos en todas las localidades analizadas.

Por otro lado, no se encontró evidencia de desequilibrio de ligación para las asociaciones no aleatorias entre los genotipos de los seis loci microsatélites, sugiriendo que los análisis pueden ser ejecutados asumiendo independencia estadística entre los loci.

## **Detección de alelos nulos**

Con la utilización del programa MICRO-CHECKER (Oosterhout et al., 2004) se verificó la posible presencia de alelos nulos para todos los loci en todas las poblaciones muestreadas. Mientras que no se encontró evidencia de errores debido a stutter o drop-out en los seis loci microsatélites utilizados.

## **Cuellos de botellas**

Debido a que las poblaciones de *P. reticulatus* presentó un alto grado de consanguinidad y desviación en el EHW causado por un déficit de heterocigotos, fue necesario comprobar si este evento se produjo por un cuello de botella reciente en las poblaciones. Para esto se utilizaron los dos métodos (i) la prueba gráfica de Luikart et al. (1998) y (ii) el método de Wilcoxon BOTTLENECK 5.1 (Cornuet & Luikart, 1996).

Con el primer método se observó que las poblaciones de *P. reticulatus* de tres de las cuatro localidades del medio natural (río Pamplonita, río Sardinata, río Zulia) y en dos centros piscícolas (Corponor y Alcarabanes) se evidencian un cuello de botella reciente, debido al cambio ocurrido en la distribución de las frecuencias alélicas. Por ejemplo para el caso del río Pamplonita la proporción de alelos presentan frecuencias entre 0,2-0,3 y 0,3-0,4 fueron inferiores a la siguiente marca de clase, esta misma situación se presentó para el río Sardinata la proporción de alelos de 0,3-0,4 y 0,4-0,5, sin embargo hubo ausencia de alelos en una marca de clases para la localidad de Corponor 0,4-0,5 y 0,5-0,6 (Figura 7).

Bajo el modelo de alelos infinitos (I.A.M), cinco de las seis localidades muestreadas experimentaron cuello de botella reciente, En cuanto a modelo evolutivo de dos fases (T.P.M) la mitad de las localidades muestreadas han atravesado recientemente por cuellos de botella. Mientras que para el modelo de mutación paso a paso (S.S.M) solo una localidad (Sardinata) atravesó por una reducción en su tamaño poblacional. La

interpretación de los resultados de este método se presentó de acuerdo a valores de probabilidad (>0.05) (Tabla. 8)

**Tabla 3. Alelos únicos encontrados en las diferentes localidades muestreadas en la población *P. reticulatus*.**

	PL 14	PL 23	PL 28	PL 34	PL 64	PL 119
<b>Pamplonita</b>					164 (0.024)	
<b>Zulia</b>				204 (0.012)		151 (0.012)
<b>Sardinata</b>			235 (0.038)			
<b>Algodonal</b>		250 (0.025)				
<b>CPA</b>		252 (0.025)				117 (0.022)
<b>Corponor</b>	108 (0.127)		231 (0.018)	182 (0.018)		

Fuente: Autor del proyecto.

**Tabla 4. Parámetros de variabilidad genética en la población de Bocachico *Prochilodus reticulatus*.**

Población	N° Ind	Na	He	Ho	Fis
Pamplonita	41	8	0.759 ± 0.09	0.102 ± 0.14	0.875 ± 0.17
Zulia	41	9	<b>0.820 ± 0.05</b>	0.089 ± 0.09	0.892 ± 0.11
Sardinata	40	<b>10</b>	0.783 ± 0.10	<b>0.075 ± 0.06</b>	<b>0.908 ± 0.07</b>
Algodonal	40	8	<b>0.708 ± 0.12</b>	<b>0.171 ± 0.13</b>	<b>0.749 ± 0.21</b>
CPA	46	8	0.782 ± 0.07	0.083 ± 0.07	0.894 ± 0.09
Corponor	55	<b>10</b>	0.809 ± 0.12	0.145 ± 0.19	0.815 ± 0.26
<b>Total</b>	<b>263</b>	<b>9</b>	<b>0.777 ± 0.09</b>	<b>0.111 ± 0.11</b>	<b>0.856 ± 0.15</b>

N: Número de individuos; Na: Numero de alelos; He: Heterocigosidad esperada; Ho: Heterocigosidad observada; Índice de endogamia.

Fuente: Autor del proyecto.

**Tabla 5. Valores de riqueza alélica encontrados en las diferentes localidades muestreadas en la población de *P. reticulatus***

<b>Locus</b>	<b>Pamplonita</b>	<b>Zulia</b>	<b>Sardinata</b>	<b>Algodonal</b>	<b>CPA</b>	<b>Corponor</b>
PL 14	3.600	4.453	3.620	3.419	3.985	5.851
PL 23	4.810	4.531	6.504	2.610	3.661	8.871
PL 28	<b>2.733</b>	<b>4.412</b>	<b>2.771</b>	<b>2.977</b>	<b>4.085</b>	<b>2.486</b>
PL 34	3.286	5.320	3.239	2.344	4.464	3.584
PL 64	<b>9.391</b>	<b>10.951</b>	<b>10.423</b>	<b>10.492</b>	<b>11.196</b>	<b>11.308</b>
PL 119	4.161	5.362	6.084	3.678	3.599	7.194

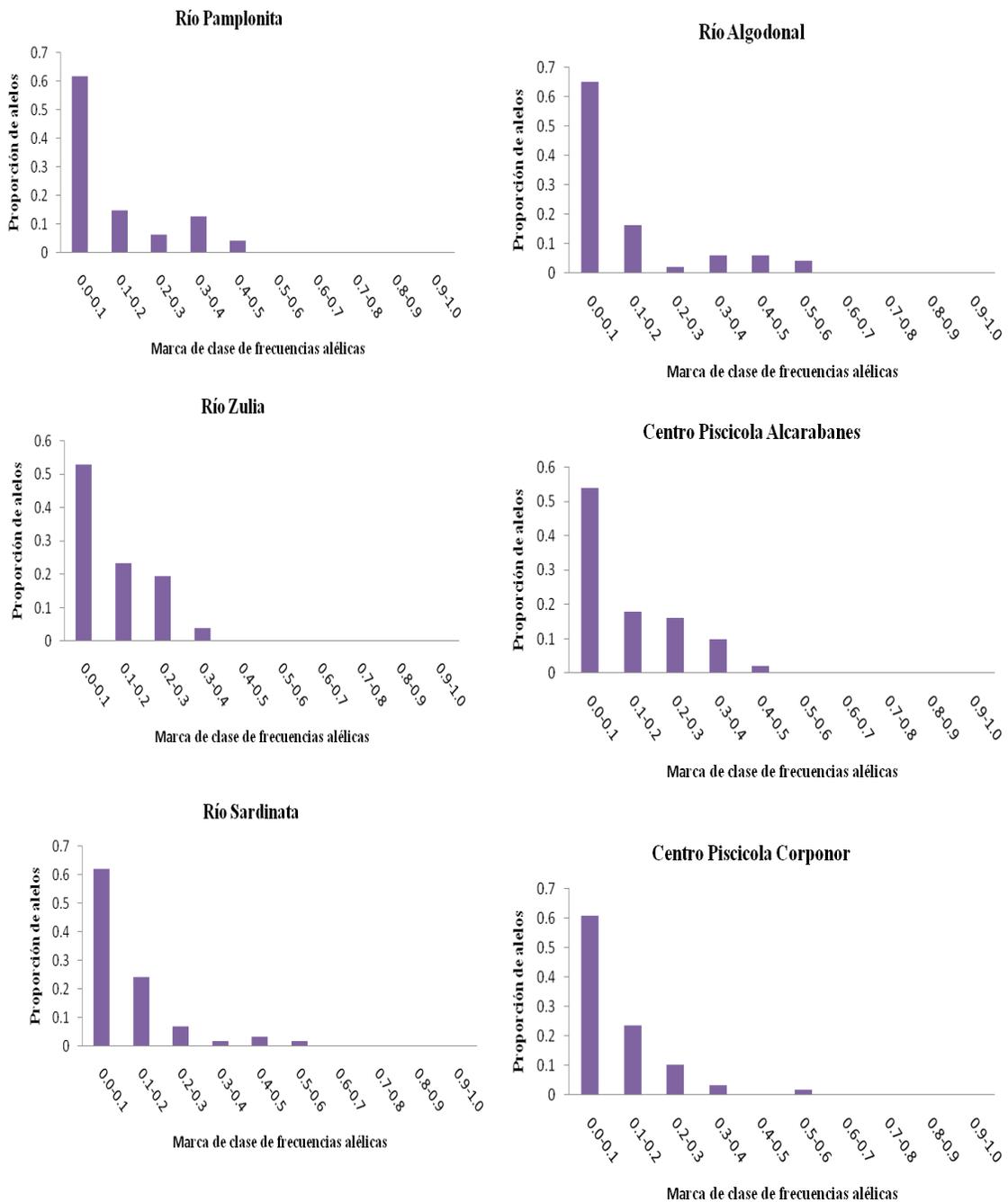
Fuente: Autor del proyecto.

**Tabla 6. Prueba de Wilcoxon para verificar la existencia de cuellos de botella en las diferentes localidades muestreadas. El análisis fue realizado bajo tres modelos evolutivos IAM, TPM y SSM.**

<b>Población</b>	<b>Alelo Mutacional</b>		
	<b>I.A.M</b>	<b>T.P.M</b>	<b>S.M.M</b>
Pamplonita	0.01563	<b>0.01563</b>	0.4375
Zulia	0.01563	<b>0.01563</b>	0.15625
Sardinata	0.01563	0.07813	0.04688
Algodonal	0.10938	0.84375	0.07813
Centro Piscícola Alcarabanes	0.01563	0.07813	0.84375
Centro Piscícola Corponor	0.01563	<b>0.04688</b>	0.6875

Fuente: Autor del proyecto.

**Figura 11. Prueba grafica de cuello de botella. Histogramas de distribución de frecuencias alélicas para la población de *P. reticulatus* de las cuatro Subcuencas del río Catatumbo y en los dos centros piscícolas.**



Fuente: Autor del proyecto.

### 3.4.2 Diferenciación génica entre poblaciones de *Prochilodus reticulatus* (Objetivo 2).

Los valores de  $F_{ST}$  emparejados obtenidos para la población de bocachico en cuatro localidades del medio natural mostró una variación entre 0,06512 entre los ríos Sardinata y Zulia y 0,18126 entre los ríos Sardinata y Algodonal (Tabla 8). Estos valores permitieron deducir que la población de bocachico presentó una moderada y alta diferenciación genética considerando los seis locus microsatélites utilizados, teniendo en cuenta la escala propuesta por Wright (1951): valores entre 0 y 0.05 indican una baja diferenciación genética, entre 0.05 y 0.15 indican una moderada diferenciación, entre 0.15 y 0.20 indican una alta diferenciación y valores por encima de 0.25 indican una gran diferenciación genética.

**Tabla 7. Valores de  $F_{ST}$  estimados entre los individuos de *P. reticulatus* entre pares de las 4 localidades muestreadas del medio natural utilizando seis locus microsatélites para un primer nivel jerárquico.**

	<b>Pamplonita</b>	<b>Zulia</b>	<b>Sardinata</b>	<b>Algodonal</b>
<b>Pamplonita</b>	0.00000			
<b>Zulia</b>	0.09919	0.00000		
<b>Sardinata</b>	0.08548	<b>0.06512</b>	0.00000	
<b>Algodonal</b>	0.13565	0.16176	<b>0.18126</b>	0.00000

Fuente: Autor del proyecto.

Los valores de  $F_{ST}$  igualados obtenidos para la población de bocachico en cuatro localidades del medio natural de la cuenca del río Catatumbo y dos centros piscícolas del departamento del Norte de Santander variaron entre 0,04321 entre el río Pamplonita y el centro piscícola de Corponor. Estos valores permitieron deducir que la población de bocachico presentó una baja diferenciación genética para estas dos localidades, por el contrario se observó que para las localidades de los ríos Sardinata y Algodonal se ostenta una alta diferencia genética presente para las dos tablas donde se incluye y se excluyen los centros piscícolas con los mismos valores de 0,18126 considerando los seis locus microsatélites utilizados.(Tabla.9) Teniendo en cuenta la escala propuesta por Wright (1951): valores entre 0 y 0.05 indican una baja diferenciación genética, entre 0.05 y 0.15 indican una moderada diferenciación, entre 0.15 y 0.20 indican una alta diferenciación y valores por encima de 0.25 indican una gran diferenciación genética.

**Tabla 8. Valores de FST estimados entre los individuos de *P. reticulatus* entre pares de las 6 localidades muestreadas del medio natural y dos centros piscícolas del departamento del Norte de Santander utilizando seis locus microsatélites para un nivel jerárquico**

	<b>Pamplonita</b>	<b>Zulia</b>	<b>Sardinata</b>	<b>Algodonal</b>	<b>CPA</b>	<b>Corponor</b>
<b>Pamplonita</b>	0.00000					
<b>Zulia</b>	0.09919	0.00000				
<b>Sardinata</b>	0.08548	0.06512	0.00000			
<b>Algodonal</b>	0.13565	0.16176	<b>0.18126</b>	0.0000		
<b>CPA</b>	0.07628	0.09272	0.06346	0.0752	0.00000	
<b>Corponor</b>	<b>0.04321</b>	0.06646	0.08655	0.12322	0.06558	0.0000

Fuente: Autor del proyecto.

#### **Análisis Molecular de Variancia (AMOVA)**

Se realizó el Análisis Molecular de Variancia (AMOVA) para verificar como la diversidad genética está distribuida a partir de la estimación de la variación genética dentro y entre las localidades muestreadas. Inicialmente, se realizó un análisis asumiendo las seis localidades como un solo grupo jerárquico para verificar los niveles generales de diferenciación genética entre las localidades. En este primer análisis, se observó una moderada diferenciación genética ( $F_{st} = 0.12206$ ;  $P < 0.0001$ ), mostrando que el 12,21% de la variabilidad genética se encuentra entre la localidades muestreadas. Tabla.10

En segunda lugar, fueron excluidos los dos centros piscícolas (Corponor y Alcarabanes), y sólo se realizó el análisis con las cuatro localidades del medio natural cada una como un grupo jerárquico con el fin de verificar si esta diferenciación genética se registraba por las estaciones piscícolas por las propias localidades del medio natural. El resultado mostró un ligero aumento en el valor de 0.12206 pasó a  $F_{st} (0,15554)$  ( $P < 0,0001$ ) al confrontarse con el primer análisis, se estimó una alta diferenciación genética entre las localidades de los tributarios.

En el tercer análisis, se conformó un grupo del medio natural excluyendo el río Algodonal. Con la intención de verificar si esta variabilidad genética correspondía a los tributarios o a las localidades ubicadas en la zona más alejada a la desembocadura de la río Catatumbo. Se registró el menor valor de  $F_{st} (0,08350)$  ( $P < 0.0001$ ) que representa una diferencia genética moderada entre los ríos destacando que la presencia del río algodonol y de las estaciones piscícolas en el análisis respaldan una gran diferencia genética entre las localidades muestreadas.

En el cuarto análisis, se conformó un grupo del medio natural sin el río Sardinata a diferencia del anterior análisis, se registró un aumento en valor de  $F_{st}$  (0,13229)  $P < (0.0001)$  que representa una diferencia genética más alta que con la registrada con la ausencia del río algodónal, entre todas las localidades pero no tan alta como la registrada entre tributarios. Y para un quinto grupo con la ausencia del río Pamplonita el  $F_{st}$ .  $P < (0.0001)$  y para un sexto conjunto este grupo se conformó sin la presencia del río Zulia el  $F_{st}$ . (0,13494)  $P < (0.0001)$  con unos valores muy similares para estos tres últimos, para estos niveles jerárquicos, donde observó una alta diferenciación genética entre las poblaciones. Debido que para estos tres últimos se incluye el río algodónal.

En el último análisis, se conformó cinco grupos distribuidos de la siguiente manera, cuatro para los tributario y un quinto grupo donde reúne los dos centros piscícolas, se observó una moderada diferenciación genética ( $F_{st} = 0,11800$ ;  $P < 0.0001$ ), en el cual el 6,59% de la variación génica se encontraba dentro de las localidades del canal principal del río Catatumbo y los centros piscícolas y el 88.20% corresponde a la variación presentada por los individuos dentro de las poblaciones. (Tabla. 10)

**Tabla 9. Análisis Molecular de Variancia (AMOVA) en *P. reticulatus*, en seis localidades, cuatro del medio natural distribuidas en la cuenca del río Catatumbo y dos de centros, utilizando seis loci de microsatélites.**

<b>Análisis</b>	<b>Grupo</b>	<b>% Entre las localidades</b>	<b>% Dentro de las localidades</b>	<b>P</b>	<b>F<sub>ST</sub></b>
<b>1</b>	Todas las Localidades	12,21	87,79	<0,0001	0,12206
<b>2</b>	Entre tributarios	15,55	84,45	<0,0001	0,15554
<b>3</b>	Tributarios sin el río algodónal	8,35	91,65	<0,0001	0,08350
<b>4</b>	Tributarios sin el río Sardinata	13,23	86,77	<0,0001	0,13229
<b>5</b>	Tributarios sin el río Pamplonita	13,71	86,29	<0,0001	0,13707
<b>6</b>	Tributarios sin el río Zulia	13,49	86,51	<0,0001	0,13494
<b>7</b>	Tributarios más centros piscícolas	6,59	88,20	<0,0001	0,11800

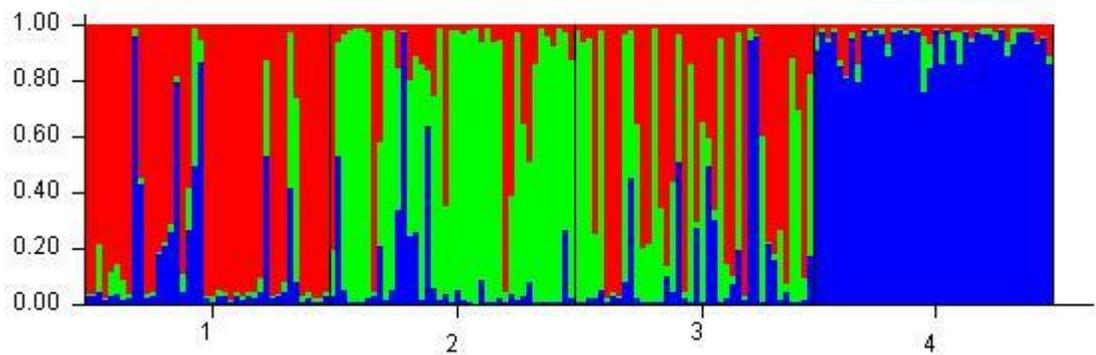
Para verificar la confiabilidad del análisis molecular de varianza (AMOVA), se realizó una prueba de asignación cuantitativa utilizando el programa GenAlex, para así determinar si los grupos conformados, corresponden a sus verdaderos grupos biológicos. De acuerdo con los resultados que mostró el programa GenAlex a partir de la prueba de asignación con la presencia de 62 inmigrantes que representan el 24% de los individuos que se encontraban en una única población inicialmente, ahora fueron asignados a otra. (Tabla.11) El centro piscícola de Corponor fue la localidad con mayor número de inmigrantes inicialmente asignados con un número de 21 individuos, por otro lado es importante resaltar que la localidad del medio natural que presentó mayor número de individuos asignados fue el río Sardinata son un número de 15 inmigrantes y 25 individuos propios del río.

**Tabla 10. Prueba de asignación para identificación de individuos residente e inmigrantes de *P. reticulatus* presentes en las diferentes localidades muestreadas.**

<b>Población</b>	<b>Residentes</b>	<b>Inmigrantes</b>
Pamplonita	36	5
Zulia	34	7
Sardinata	25	15
Algodonal	38	2
CPA	34	12
Corponor	34	21
Total	201	62
Porcentaje	76%	24%

Cuando los genotipos de los 162 individuos indistintamente de su lugar de origen, fueron analizados en el programa STRUCTURE para estimar el número de poblaciones genéticamente homogéneas (K), se pudo verificar a través del método propuesto por Evanno et al., (2005) la presencia de tres cluster (K=3), para las cuatro localidades del medio natural lo cual indica que la distribución del material genético en la población no es uniforme, debido a que se observan claramente la presencia de tres poblaciones. Este resultado, es congruente con los valores reportados para el índice Fst (entre pares de poblaciones) y la AMOVA, y <<además de lo anterior, sugiere que las tres poblaciones coexisten por las localidades muestreadas a lo largo del río Catatumbo y sus tributarios, demostrando que existe flujo génico entre ellas. (Figura. 10)

**Figura 12 Gráfico barr plot con el más alto valor para Delta K (K=3), resultado del agrupamiento generado por el programa STRUCTURE. Cada individuo de *P. reticulatus* está representado por una barra vertical cuyo color indica el coeficiente de parentesco a cada uno**

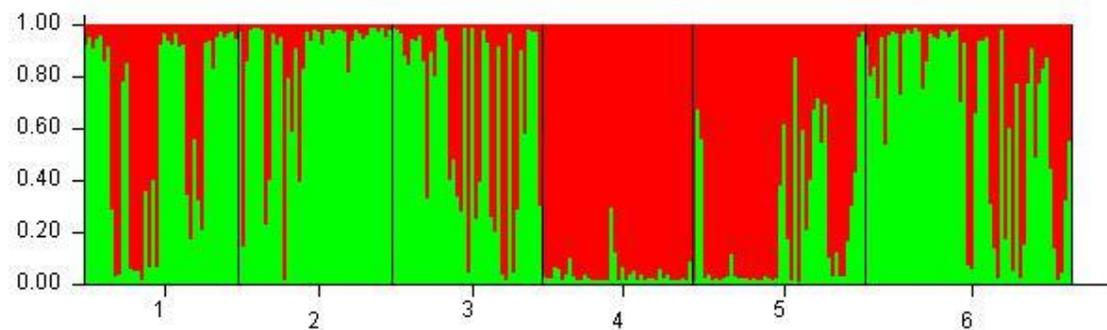


Fuente: Autor del proyecto.

1. Pamplonita; 2. Zulia; 3.Sardinata; 4. Algodonal

Para la siguiente resultado se tiene los genotipos de los 263 individuos sin tener en cuenta su lugar de procedencia, fueron analizados en el programa STRUCTURE para estimar el número de poblaciones genéticamente homogéneas (K), se pudo verificar a través del método propuesto por Evanno et al., (2005) la presencia de dos cluster (K=2), para las seis localidades lo cual muestra que la colocación del material genético en la población no es equivalente, identificándose la presencia de dos poblaciones. Este resultado, es coherente con los valores reportados para el índice Fst (entre pares de poblaciones) y la AMOVA, donde el río Algodonal representa una alta diferencia con respecto a las cinco localidades estudiadas, es importante resaltar que la población resaltada con el color verde coexisten con las localidades muestreadas debido a que los centros piscícolas muy posiblemente contienen en su juego de reproductores individuos de los ríos Sardinata, Zulia y Pamplonita, demostrando que existe flujo génico entre ellas. (Figura. 10)

**Figura 13 Gráfico barr plot con el más alto valor para Delta K (K=2), resultado del agrupamiento generado por el programa STRUCTURE. Cada individuo de *P. reticulatus* está representado por una barra vertical cuyo color indica el coeficiente de parentesco a cada uno de los cluster. b) Valores del Delta K según la corrección de Evanno et al., 2005 mostrando el mayor valor para K=2.**

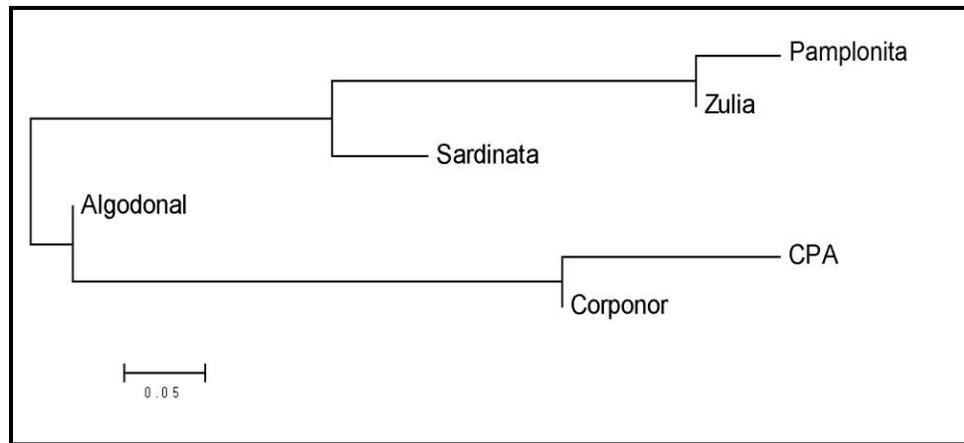


Fuente: Autor del proyecto.

1. Pamplonita; 2. Zulia; 3.Sardinata; 4. Algodonal; 5. CPA: centro piscícola Alcarabanes; 6.Centro piscícola Corponor.

Finalmente, utilizando la distancia genética de (Nei, 1977) se evaluaron las relaciones genéticas entre las localidades muestreadas. El dendrograma resultante del método de agrupamiento (Neighbor-Joining) mostró dos grupos, uno conformado por los ríos Sardinata, Pamplonita y Zulia, Otro grupo formado por el río Algodonal y otra por las estaciones piscícolas mostrando una similitud genética entre ésta última localidad.

**Figura 34 Dendrograma de Neighbor-Joining utilizando la distancia genética de Nei (1997) para las seis localidades muestreadas.**



Fuente: Autor del proyecto.

### **3.5 DISCUSIÓN**

**3.5.1 Variabilidad genética intrapoblacional.** La variabilidad genética se entiende como la cantidad de información genética individual y de una población que les permite superponerse ante situaciones adversas del ambiente (origen natural o antropogénico). En la mayoría de las poblaciones naturales existe una variación genética en los caracteres, los cuales reciben la influencia de los alelos de diversos genes y de los efectos del entorno (interacción genotipo-ambiente) (Hartl y Clark, 1997). Pero existe una variación genética oculta que es mucho más extensa que la que se observa a través del fenotipo. Por ejemplo, al emplear marcadores moleculares y llegar a cuantificar la variación genética oculta. Esta variación genética puede detectarse mediante tecnologías moleculares que evidencian polimorfismos, los cuales resultan útiles como marcadores genéticos. Los microsatélites son buenos marcadores para cuantificar este tipo de variación genética, Los locus microsatélites utilizados en esta investigación condescendieron la caracterización de la variabilidad genética entre la población natural y de medio cautivo de *Prochilodus reticulatus* presentes en las cuatro subcuencas principales que drenan en el río Catatumbo y a dos centros piscícolas del departamento de Norte de Santander. (Corponor y Alcarabanes) A nivel global todos los *loci* microsatélites utilizados fueron polimórficos en un (100%) en el cual fueron identificados 78 alelos distribuidos en seis localidades muestreadas entre 263 individuos; cuatro del medio natural de la cuenca del río Catatumbo y dos a centros piscícolas del departamento del Norte de Santander, con un promedio de trece alelos por locus por localidad, utilizando microsatélites heterologos de *Prochilodus lineatus* publicados por (Rueda, 2011), siendo éste el más bajo obtenido en comparación con artículos publicados en los últimos años para el género *Prochilodus spp*, en el estudio reportado por (Arrieta 2013) registró un total de 206 alelos entre los 313 individuos de bocachico para los siete locus microsatélites utilizados variando de 21-38 alelos por locus, quien realizó un estudio comparativo entre individuos del medio natural asociado a centros

piscícolas para el río Sinú. Por otro lado los datos obtenidos de heterocigosidad esperada (He) promedio de 0.844 por locus y una heterocigosidad observada (Ho) promedio de 0.112 por locus, el índice de endogamia registrado (Fis) más alto lo evidenció el locus PI 28 con un valor de 0,980.(Tabla 4) se pretende con estos resultados emparentar dichos valores con los registrados para otras especies de peces, sometidas a estudios de poblaciones utilizando marcadores de microsatélites en el cual se utilizaron 524 locus microsatélites y alrededor de 40.000 individuos, que se distribuían en 78 especies (DeWoody & Avise, 2000) se puede destacar la diferencia significativa que existe debido a que los niveles de endogamia para el río Catatumbo son los más bajos reportados para el presente estudio de genética de poblaciones con la especie *Prochilodus reticulatus*. (Tabla 4)

Este estudio mostró una relación significativa entre los peces anádromos frente a las peces de agua dulce que presentan migraciones, debido a que estos datos indica que posiblemente el desplazamiento continuo ya sea de tipo reproductivo o trófico representa una pérdida sustancial de alelos y por consiguiente, pérdida del recurso genética. Estudios recientes sobre el bocachico *Prochilodus spp* demuestran que las principales fuentes hídricas de Colombia presenta una alta (He) frente a otros estudiados en Suramérica, aunque no existan muchos estudios para éste empleando marcadores microsatélites. Sin embargo, en los últimos años se ha intensificado la investigación sobre la especie de *Prochilodus magdalenae* quien se encuentra catalogada en el libro rojo como (VU) vulnerable, (José Iván Mojica, Mauricio Valderrama, Carlos Barreto y Ricardo Álvarez-León, 2012), no se reportan estudios con la utilización de marcadores moleculares para la especie de bocachico *P. reticulatus*, específicamente para la cuenca del río Catatumbo.

El loci de microsatélites empleados en el presente trabajo proporcionó las herramientas útiles para permitir una mejor comprensión de la estructura de la población de *P. reticulatus* a través de la identificación de las poblaciones naturales y, por tanto, contribuir a los programas de conservación con respecto a este grupo de peces.

Los valores hallados en la presente investigación mostró que la variabilidad genética registrada para *P. reticulatus*, es la más baja en comparación con lo observado para las especies de peces de su mismo género y para sus congéneres, ya que los niveles de heterocigosidad observada (Ho) para la población de *Prochilodus spp* está entre los valores más bajos registrados para todo el grupo. (Tabla.13)

**Tabla 11. Análisis comparativo de los índices de variabilidad genética obtenidos a partir marcadores moleculares microsatélites en algunas especies de peces migratorios presentes en ríos suramericanos.**

Especie	Río	N° Locu s	Ra	Ho	He	Autor
<i>Prochilodus costatus</i>	Sao Francisco	6	7,6	0,45	0,66	Carvalho-Costa et al., 2008
<i>Prochilodus costatus</i>	Sao Francisco	10	9,05	0,55	0,64	Silva, 2011
<i>Prochilodus lineatus</i>	Paraná	13		0-1	0,64	Rueda et al., 2011
<i>Prochilodus argenteus</i>	Sao Francisco	4		0,647	0,91	Hatanaka et al., 2006
<i>Prochilodus argenteus</i>	Sao Francisco	8		0,56	0,6	Galzarani, 2007
<i>Prochilodus argenteus</i>		13		0,67		
<i>Prochilodus marie</i>		13		0,53		
<i>Prochilodus nigricans</i>		13		0,66		Rueda et al., 2011
<i>Brycon hilarii</i>	Miranda	7	8,1	0,57	0,67	Sanches, 2007
<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	Sao Francisco	6		0,698	1	Dantas, 2010
<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>	Amazonas	8	11,3	0,59	0,61	Batista, 2010
<i>Prochilodus magdalenae</i>	Sinú	7		0,273	4	Santacruz, 2003
<i>Prochilodus magdalenae</i>		7		0,114	1	Castañeda, 2012
<i>Prochilodus magdalenae</i>		7	95	0,301	2	Muñoz, 2013
<i>Prochilodus magdalenae</i>	Magdalena	7	11,8	0,277	2	Julio, 2013
<i>Prochilodus magdalenae</i>	Sinú	7	46	0,24	0,87	Arrieta, 2013
<i>Prochilodus magdalenae</i>	Magdalena	7	11,5	0,276	8	Orozco, 2014
<i>Prochilodus reticulatus</i>	Catatumbo	6	5,31	0,112	0,84	<b>Presente estudio</b>

Fuente: Autor del proyecto.

**3.5.2 Diversidad genética en las diferentes localidades Analizadas.** En Colombia se reconocen 81 peces de agua dulce en algún nivel de amenaza de extinción. Uno de los problemas observables en este tipo de investigación es el deterioro de información genética debido a que en los análisis estadísticos muestra que los reportes de endogamia reclutados son muy elevados. La depresión endogámica se entiende como la reducción en la supervivencia o fecundidad resultante del aumento de la homocigosidad (Lindermayer & Burgman, 2005). Para los 78 alelos encontrados se destacan 10 alelos únicos, liderados por

la localidad de Corponor con tres, el Zulia y Algodonal con dos y el resto de localidades con uno respectivamente, esto representan el 12.82% del total encontrado es un porcentaje muy bajo de riqueza alélica y con la estimación presuntiva que para siguientes generaciones permanezca vigente o simplemente por selección natural sea anulado sin poder determinar a qué tipo de característica somos ajenos. Estos valores fueron inferiores a los reportados por (Arrieta 2013) con 46 alelos exclusivos o privados entre los 206 alelos que representan el 22,33% encontrados para la población de bocachico *P. magdalenae*.

Aunque la heterocigosidad observada es realmente crítica para la especie de *Prochilodus reticulatus*, los valores más bajos para esta variable están representados en los ríos más alejados del Canal principal del río Catatumbo, los cuales son el río Sardinata con el valor de 0.075, seguido de Zulia con 0,089 y por último el río Pamplonita con 0,102 y la más alta para el río Algodonal 0.017 quien se encuentra a unos pocos kilómetros de éste, con un promedio de 0.111 estos datos no llegan a ser representativos porque está indicando una variabilidad genética muy baja. Estos valores son inferiores en los publicados por (Orozco 2014) para el río Magdalena con un promedio de 0,276 el cual es significativamente bajo.

En general, este estudio demostró que las poblaciones de *P. reticulatus* tanto del medio natural como de las estaciones piscícolas evidencian una variabilidad genética muy baja; sin embargo podrían recuperar su variabilidad debido a que presentan un potencial genético revelado por la alta heterocigosidad esperada ( $H_e$ ). Nuestras poblaciones de bocachico de la cuenca del río Catatumbo está invadida por individuos mayormente homocigotos, esta condición muestra que están heredando del padre y de la madre los mismos alélos. Sin embargo, los valores son muy bajos, existe una ventaja en la heterocigosidad esperada, ya que estos ríos con mayor distancia geográfica presentan los valores más altos y es un factor muy importante a tener en cuenta en un programa de repoblación debido a que el objetivo es exteriorizar esa heterocigosidad que tienen en condición recesiva. Caso similar fue reportado por (Arrieta, 2013) quien evaluó la variabilidad genética de bocachico del Magdalena del medio natural asociado a dos centros piscícolas.

Cuando se realizan estudios genéticos con poblaciones de peces, es común registrar una deficiencia de heterocigotos ligado a una pérdida significativa en la capacidad reproductiva (depresión endogámica) y una disminución en la capacidad para evolucionar ante los cambios ambientales (cambio climático, contaminación), que muestra a dichas poblaciones fuera de las proporciones esperadas para el EHW (Hatanaka *et al.*, 2006; Sanches, 2007; Carvalho-Costa *et al.*, 2008; Rossini, 2010; Silva, 2011). Algunos autores, indican que este desequilibrio puede propiciarse por los siguientes principios: un cuello de botella reciente, presencia de alelos nulos, selección de alelos, entrecruzamiento, efecto Whalund (exceso de homocigotos por solapamiento de poblaciones) y errores de muestreo (subestimación de alelos) (De León *et al.*, 1997; Xu *et al.*, 2001; Narváez, 2006; Pereira *et al.*, 2009; Muñoz, 2013; Arrieta 2013; Orozco, 2014). La fragmentación poblacional lleva a la pérdida de genes y a largo plazo a la extinción. (Carrillo, 2012)

Se asume que la especie de bocachico tiene una amplia distribución geográfica para Suramérica en el cual encontramos 13 especies y cuatro endémicas para Colombia (Castro

y Vari, 2003) y es considerada como una única unidad de manejo en la reglamentación pesquera. Se desconoce la variación en la historia de vida de la especie en su distribución geográfica porque no se tienen en cuenta las características geomorfológicas e hidrológicas (ambiente). Es el caso del bocachico del Catatumbo que los reportes e investigaciones para esta especie son limitados. Ese ambiente puede influir en la subdivisión de esta unidad de manejo y es lo que se evidenció claramente en este estudio. Sin embargo, en el manejo clásico de los recursos no se respeta en primera instancia las medidas como tallas mínimas de captura, prohibición de artes de pesca, establecimiento de vedas, repoblaciones sin criterio científico que provoca innumerables consecuencias negativas para las fuentes hídricas y los ecosistemas naturales.

Sin embargo, a través de la prueba de Wilcoxon para verificar la ocurrencia de cuellos de botella recientes, se encontró que cinco de las seis localidades muestreadas han atravesado por una reducción en su tamaño poblacional; la localidad del río Algodonal fue la única que para esta prueba no presentó cuello de botella debido a que presentó mayor número de marcas de clase de frecuencias alélicas con respecto a las otras localidades (Figura. 8) Estos valores fueron superiores en comparación a los observados en otros estudios. Por ejemplo (Arrieta, 2013; Gilberto, 2014), no reportaron cuellos de botella para el río Sinú y Magdalena respectivamente para esta prueba, se puede presumir que la distancia geográfica que comparte el río Magdalena y el Sinú en comparación con río Catatumbo que es tres veces más pequeño puede ser una limitante y gran desventaja debido a que los desplazamientos migratorios son menores y pueden ser los causantes de una reducción poblacional al encontrar barreras como diques, represas entre otras.

Sin embargo, este vestigio genético se corrobora en el modelo evolutivo de dos fases (T.P.M) considerado el más idóneo para datos obtenidos con marcadores microsatélites (Di Rienzo et al., 1994), el cual es el intermedio entre el I.A.M y S.S.M, donde se observa que la mitad de las poblaciones del medio natural el río Zulia, el río Pamplonita y una de medio cautivo el centro piscícola de Corponor presentan una reciente reducción poblacional, este método fue similar para el estudio de (Orozco 2014), quien reporta que la mitad de sus localidades atraviesan por un cuello de botella, con la salvedad que estas localidades pertenecen al medio natural (río Magdalena) incluida la represa de Betania, caso contrario se observó en el estudio de (Arrieta 2013) quien no presenta cuellos de botella reciente para los centros piscícolas CINPIC-CVS y del medio natural (río Sinú), en el estudio de (Castañeda 2012; Muñoz 2013), se evidencia una reciente reducción poblacional en los dos centros piscícolas estudiados, SENA y REPELON es común observar que los centros piscícolas atraviesan por cuellos de botella, esta condición está asociada a un déficit de heterocigotos que puede estar explicado por tres razones: Primero; al efecto fundador, un fenómeno común en las estaciones piscícolas cuando establecen sistemas de reproductores a partir de un número muy reducido de peces que son homogéneos genéticamente (Ambali et al., 1999). Segundo; equivocadas prácticas de selección artificial que se aplican cuando con este mismo sistema de reproductores se hace fomento, dado que en la búsqueda de mejorar el desempeño en crecimiento y biomasa de los cultivos se seleccionan peces muy emparentados (Ferguson y Danzmann, 1998; Povh et al., 2008). Tercero; el origen de los peces para establecer el sistema de reproductores puede

ser el mismo. Algunos autores, indican que en sus estudios encontraron que este desequilibrio puede propiciarse y por consiguiente desarrollarse un cuello de botella reciente en las poblaciones. (Castañeda 2012; Muñoz 2013) A partir de este tipo de condiciones es determinante identificar las poblaciones que hayan experimentado una reducción drástica en su tamaño, ya que esta fragmentación puede acelerar la pérdida de variabilidad genética así como también reducir su potencial evolutivo aumentando la probabilidad de extinción de la misma (Vrijenhoek, 1998; Luikart & Cornuet, 1998).

Al encontrar una significativa deficiencia de heterocigotos, la cual probablemente está relacionada con la alta frecuencia de los alelos nulos que subestiman está variable. Al utilizar microsatélites, la presencia de alelos nulos se debe generalmente a mutaciones en las secuencias que flanquean la región microsatélite, las cuales sirven de unión a los partidores diseñados para producir la amplificación por PCR. De esta forma un genotipo heterocigoto puede ser registrado erróneamente como un individuo homocigoto al no amplificar uno de sus dos alelos (Darkin & Avise, 2004). Con ayuda de procedimientos bayesianos, se pudo identificar la presencia de más de una población en cada localidad de muestreo, corroborando así la existencia de un posible efecto Wahlund en la población de bocachico, hecho que pudo ser constatado a través de todas las localidades de muestreo utilizadas en este estudio, ya que todos los locus presentaron desvíos en el EHW.

Para determinar la cantidad de alelos nulos presentes en este estudio se utilizó del programa MICRO-CHECKER (Oosterhout et al., 2004) como herramienta primaria para determinar el porcentaje de alelos nulos, que fue muy baja reportando un dos por ciento en todos los 78 alelos encontrados para la especie de *P. reticulatus* esto nos demuestra que la población está parcialmente afectada por la endogamia y que estos individuos son homocigotos en su mayoría, esta es una condición alarmante y un tanto crítica debido a que las progenies siguen heredando los mismos alelos y el pool genético empieza a perder información valiosa que ayude a la especie en la supervivencia, aunque en el libro rojo se menciona en estado vulnerable sólo a una especie de *Prochilodus*; el bocachico del magdalena, *Prochilodus magdalenae*, es importante que el bocachico del Catatumbo *Prochilodus reticulatus* aparezca como especie altamente amenazada que necesita ser tomada en cuenta para su recuperación.

En el presente estudio se utilizaron microsatélites heterologos y esto genera presencia de alelos nulos ya que estos marcadores no fueron diseñados para la especie analizada en el presente estudio, esto se comprueba con los estudios realizados por (Castañeda 2012; Muñoz 2013; Arrieta 2013 y Orozco 2014) quienes también encontraron presencia de alelos nulos en sus investigaciones debido a que utilizaron marcadores microsatélites de *Prochilodus lineatus* para evaluar la variabilidad genética de la especie de *Prochilodus magdalenae*.

**3.5.2.1 Diferenciación génica entre poblaciones de *Prochilodus reticulatus*.** Las poblaciones se encuentran estructuradas en grupos de individuos similares genéticamente, el grado de separación está relacionado directamente con la difusión de individuos entre estos grupos (Laikre et al., 2005), lo que se distinguido como “estructura genética

poblacional” de una especie. Según (Laikre et al., 2005), los altos valores de variación genética hallados para otras poblaciones reflejan la variabilidad genética total de una especie. Esta variación es de gran importancia, ya que permite una resistencia adaptativa frente a los retos impuestos por el ambiente natural o el modificado por acciones del hombre. El uso de marcadores genéticos como los microsatélites, tienen la capacidad de detectar y describir diferencias genéticas entre poblaciones (Hedrick, 1999). Las investigaciones adelantadas sobre la diferenciación poblacional en peces, se vienen desarrollando como un esfuerzo para la identificación y manejo de los diferentes stocks genéticos vigentes en nuestras poblaciones, principalmente en aquellas que sufren una fuerte presión pesquera, como es el caso del bocachico *Prochilodus spp.* Sin embargo, hay que resaltar que la distribución de la variación genética dentro de una población no es homogénea.

En el presente estudio, los valores observados para el índice *Fst.* entre pares de poblaciones para el medio natural varió entre 0.06512 (el río Sardinata-río Zulia) y 0.18126 (río Sardinata-río Algodonal), los cuales fueron significativos y determinantes en esta investigación, debido a que el río Algodonal presentó una alta diferencia genética respecto a las otras localidades muestreadas y se puede corroborar los valores observados para el índice *Fst.* entre pares de poblaciones para todas las localidades donde se mantiene constante los valores de este último, donde los valores de *Fst.* para este grupo varió entre 0.0432 para (el río Pamplonita-centro piscícola de Corponor) y 0.18126 (río Sardinata-río Algodonal).

Además de destacar que el río Algodonal presentó mayor diferencias con las demás localidades. Los centros piscícolas en su totalidad entre ellos no se observó diferencias, acotando que la cercanía que presentan uno del otro fue significativo para identificar una estrecha relación con los ríos más cercanos a ellos Sardinata, Pamplonita y el Zulia. El acervo genético es muy similar para estas localidades. Sin embargo, Todo lo contrario se presentó para la investigación realizada por (Arrieta 2013) para el río Sinú donde los centros piscícolas presentaron una alta diferencia con respecto al medio natural.

El resultado obtenido a través del Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) en un primer momento mostró para el primer análisis jerárquico valores significativos en cuanto a la distribución de los alelos en todas las localidades muestreadas, es decir, se observó diferenciación genética asumiendo todas las localidades como un solo grupo. En este análisis fue observado que el 12.22% de la variabilidad se encuentra entre las localidades y el 87.79% entre todos los individuos muestreados. Este resultado, conllevó a la realización de diferentes agrupamientos para verificar cómo se distribuía la variación genética entre las localidades. Los resultados obtenidos para los posteriores agrupamientos, mostraron diferenciación genética moderada y alta, con una leve disminución del valor de *Fst.* Sin embargo, este siguió siendo alto ya que el 6,59% de la variabilidad se encontraba entre los tributarios y los centros piscícolas. Los análisis anteriores indicaron que la mayor parte de la variación genética se encontraba en las localidades ubicadas del medio natural con 15,55% hecho que fue confirmado al momento en que se retiró del análisis los centros piscícolas, mostrando una variación que se encontraba distribuida en dicha zona. Sin

embargo al analizar los datos reportados para los grupos donde se excluye uno a uno los tributarios se observa que en conjunto donde el río Algodonal no es tomado en cuenta los valores bajan con determinación, y seguido de esto los siguientes grupos que se conforman con la presencia de este río presentan un aumento entre las localidades, Un similar resultado fue el reportado por el estudio de (Orozco 2014) donde la mayor variabilidad genética presente fue en las localidades ubicadas en el canal principal del río Magdalena.

El análisis de los genotipos de *P. reticulatus* a través de inferencia bayesiana realizado en el programa STRUCTURE, con ayuda del método propuesto por (Evanno et al., 2005), detectó la presencia de tres poblaciones sólo para el medio natural. La prueba de asignación demostró que estas tres poblaciones se encontraban distribuidas por todas las localidades muestreadas más en una que en las demás, evidenciando que existe un moderado flujo génico entre ellas. El resultado de este análisis, correspondió con los valores de  $F_{st}$  y AMOVA hallados para la población, los cuales indicaron una moderada estructuración genética, el río Sardinata presentó una alta homogeneidad genética, ya que más del 37.5% de los individuos pertenecientes a esta muestra fueron asignados a dos de los tres grupos.

Por otro lado el programa STRUCTURE, con ayuda del método propuesto por (Evanno et al., 2005) fue ejecutado para todas las localidades incluidas los centros piscícolas, se evidenció la presencia de dos poblaciones claramente definida, y siendo consecuente con todo lo que el estudio ha venido mostrando, los centros piscícolas y las localidades de los ríos Sardinata, Zulia y Pamplonita forman el primer grupo jerárquico, determinado y definido por condiciones de acercamiento de los tributarios a estos centros, donde muy seguramente se obtuvieron los reproductores que fueron utilizados para programas de repoblación donde se observa un aporte de individuos en condición de homocigotos debido a el cuello de botella y la reducción de alelos que presentan las estaciones piscícolas al emparentar machos y hembras del mismo grupo poblacional y un segundo grupo fundamentado por los individuos del río Algodonal, quien claramente desde el inicio de la investigación ha presentado mayor diferencia respecto a las demás localidades. Representado en valores como: La heterocigosidad observada alta, el porcentaje de endogamia baja, alelos únicos, no presentar cuello de botella, esta diferencia significativa puede ser ocasionada porque geográficamente se encuentra muy cerca al canal principal del río Catatumbo, el impacto de la pesca no es mayor en este sector y los habitantes de la zona no dependen económicamente de la pesca, pero se evidencia un problema aún mayor y es la contaminación con productos de control de plagas y enfermedades utilizados para los cultivos ilícitos y el derrame de crudo al río de manera constante y es la causa principal por la que los habitantes de la región han disminuido la actividad extractiva de la especie.

En el presente estudio se encontró que la variabilidad genética de la población de *P. reticulatus* en el río Catatumbo y sus tributarios presenta una reducción significativa esto se debe a un sin número de causas antes mencionadas, existe un factor que puede ser determinante que no se ha tenido en cuenta y esta dado por el tamaño de la cuenca, ya que la distribución geográfica dentro del territorio colombiano es de poca longitud, en comparación con los tres ríos donde se encuentran las tres especies de *Prochilodus Spp* reportadas para Colombia (Castro y Vari 2003), así mismo se puede estimar que el

bocachico *Prochilodus reticulatus* en una especie migratoria de cortas distancias. En comparación con el bocachico del Magdalena *Prochilodus magdalenae* quién realiza grandes desplazamientos por miles de kilómetros para lograr una migración exitosa, la gran abundancia del río Magdalena propicia un ambiente idóneo para esta actividad, por otro lado su amplia distribución hace que estas poblaciones de peces no posea barreras visibles al flujo génico, a pesar de la existencia de la represa de Betania. Es claro que desde la construcción de la represa se ha interrumpido el proceso migratorio del bocachico, sin embargo, es posible que este proceso reproductivo se lleve a cabo en inmediaciones de la represa o que la población esté utilizando algunos tributarios ubicados antes de la represa de Betania como el río Saldaña o el río Las Ceibas, para culminar el proceso reproductivo (Orozco, 2014).

Al descubrir una diferenciación genética significativa entre las localidades ubicadas a lo largo del río Catatumbo a través de sus tributarios, indicó que la distribución genética de la población de *P. reticulatus* no es homogénea, es decir, no forman una única población panmítica. Esto sugiere que los peces deben organizarse en unidades reproductivas similares, con el fin de mantener su integridad genética.

A pesar de la presencia de un alto flujo génico debido a su migración reproductiva entre las diferentes unidades, este no ha sido suficiente para homogenizar sus frecuencias alélicas. Es posible que la estructura genética de la población de *Prochilodus reticulatus*, esté siendo mantenida por un acontecimiento similar a las “ondas reproductivas” referidas por Jorgensen *et al.*, (2005). Esto es, grupos genéticamente diferenciados de individuos que se reproducen en un mismo lugar en diferentes periodos de tiempo con cierto grado de solapamiento. Teniendo en cuenta que el muestro se realizó en época de lluvias donde los peces estuvieron maduros y empezaron proceso de migración para la posterior faena reproductiva, los Bocachicos representados en su tipo de migración potándrica experimente un tipo de fidelidad geográfica efecto homming (de regreso a casa), la respuesta a este comportamiento de manera separada y determinante en la homogenización de la población reportado por los *Fst* observados en el presente estudio, puede ser el resultado de una respuesta a un comportamiento propia de la especie para realizar los desplazamientos con objetivos reproductivos y una manera de agrupar a los individuos que por selección natural participan en la reproducción, debido a que a esta actividad también participan los peces juveniles que pueden ser hijos primos o hermanos, que no participan del evento pero que realizan de igual forma el recorrido en aras de reconocer el recorrido sobre el río para su posterior desove cuando avance en su etapa de transición de joven -adulto.

Por otro lado se observa que este evento reproductivo diferencial está ligado a las épocas de lluvia y puede estar presentada en la población del bocachico del Catatumbo al igual que el bocachico del Magdalena debido a que recientemente se comprobó que esta última especie responde a dos picos reproductivos durante el año, convergiendo con los dos picos hidrológicos registrados para esta cuenca (Valderrama & Petrere, 1994; Jiménez-Segura *et al.*, 2010). Caso similar fue el reportado por (Orozco 2014) quien encontró una gran influencia en la fragmentación de la población que participa en la reproducción teniendo en cuenta los dos picos hídricos durante el año. Es posible que el bocachico del Catatumbo *P.*

*reticulatus* realice esa misma actividad, debido a que las dos especies pertenecen al mismo género y presentan el mismo comportamiento reproductivo por ser del mismo género y ser especies reofilicos.

Estos autores sugieren que es posible que una fracción de la población se reproduzca durante el primer ciclo hidrológico y el restante en el segundo. Este evento solo afecta a una fracción de la población de *P. reticulatus* que no pudo migrar durante el primer ciclo hidrológico contribuyendo así a la diferenciación genética encontrada a través de los análisis realizados (Fst, AMOVA, Bayesianos). Sin embargo, este fenómeno de “ondas reproductivas” implicaría la existencia de dos grupos en la cuenca del río Catatumbo debido al ciclo hidrológico presente en esta cuenca. Probablemente la tercera población detectada a través de análisis bayesianos ejecutados en el programa STRUCTURE sea debido a la homogenización producto de la repoblación realizada en esta cuenca, generando una diferenciación de las frecuencias alélicas registradas en las poblaciones en medio natural y aquella que es producto de la siembra de alevinos de bocachico sin criterio científico proveniente de centros piscícolas encargadas de los repoblamientos en la cuenca. (Arrieta 2013; Orozco 2014).

Para la fauna de peces neotropicales de importancia comercial, estudios similares utilizando marcadores microsatélites han reportado la presencia de poblaciones panmítica (una sola población), así como poblaciones estructuradas en un mismo sistema hidrográfico. Tal es el caso al reportado por Carvalho-Costa et al., (2008) mediante el uso de microsatélites, sugiere la presencia de una sola población para *Prochilodus costatus* presente en la cuenca del río Sao Francisco, registrando valores de  $F_{st}=0.006$  y  $P=0.52$ , a pesar que el estudio fue desarrollado en inmediaciones de la represa de Tres Mariás y Sobradinho, las cuales han fragmentado la cuenca del río. Sin embargo, el autor aduce que las subpoblaciones locales de *P. costatus*, deben ser fuertemente influidas por la migración reproductiva, que proporciona un alto flujo génico entre las subpoblaciones disminuyendo las diferencias en las frecuencias alélicas. En un posterior estudio desarrollado por Silva, (2011), confirmó la existencia de una única población para *P. costatus* presente en la cuenca del río Sao Francisco. Este mismo escenario fue el reportado por Dantas, (2010) con el uso de microsatélites para la especie *Pseudoplatystoma corruscans* en el río Sao Francisco. Este pez migratorio está sometido a una presión pesquera debido a su alto valor comercial, y sumado a esto a la presencia de represas hidroeléctricas que interrumpen su proceso migratorio. A pesar de esta problemática, el valor hallado para el índice  $F_{st}$  0.0246 indica la ausencia de estructuración genética en la población, sugiriendo que los reproductores que son usados en los programas de repoblamiento pueden ser tomados de cualquier parte de la cuenca del río. Por otro lado, los resultados obtenidos para la dorada (*Brachiplatystoma rousseauxii*), un bagre migratorio de valor comercial y en sobrepesca, compone una única población a través del sistema EAS (Estuario-Manaus-Tabatinga), usando marcadores mitocondriales y nucleares (ADNmt y microsatélites) (Batista, 2010). Este escenario corroboró los estudios anteriormente realizados para la dorada, con otro tipo de herramientas como los datos morfométricos y merísticos.

Sin embargo, para el género *Prochilodus* se han documentado que la población puede organizarse en núcleos diferenciales que co-migran dentro de un mismo sistema hidrográfico. Tal es el caso reportado por Hatanaka y colaboradores (2006), utilizando cuatro locus microsátélites en la especie *P. argenteus*, en la cual observaron un bajo pero significativo valor de  $F_{st}$  ( $F_{st}=0.008$ ;  $P=0.0002$ ) durante el periodo reproductivo en la cuenca del río Sao Francisco. De igual manera, Barroca et al., (2012) observó similares resultados para las especies *P. costatus* y *P. argenteus* en la cuenca del río Sao Francisco a través de cinco localidades de muestreo a lo largo de esta cuenca. Caso similar es el reportado por Sanches (2007) para la especie *Brycon hiliarii* en el cual evidencian diferenciación significativa en un cardumen reproductivo en relación con otras muestras recolectadas en la misma cuenca. El autor resalta la presencia de gran cantidad de alelos privados en dicho cardumen, hecho que pudo contribuir a la diferenciación genética del cardumen. Sanches et al., (2012), registra por lo menos dos poblaciones definidas de *Brycon orthotaenia* en la cuenca del río Sao Francisco. Para la especie *Brycon opalinus* se ha reportado la estructuración de la población a lo largo de la cuenca de Paraíba do Sul (Barroso et al., 2005). Para la especie (*Prochilodus magdalenae*), se han desarrollado pocos trabajos que intentan evaluar la estructura genética de la población, sin embargo, en el desarrollado por Santa cruz (2005), se logró identificar una leve diferenciación genética para las poblaciones presentes en el río Sinú ( $F_{st}=0.037$ ,  $\Phi_{st}=0.095$ ), destacando además la presencia de cuatro linajes genéticos en la población de bocachico presente en este río. El estudio realizado por (Arrieta 2013) muestra en la AMOVA y pruebas bayesianas, permitió detectar que la población de *P. magdalenae* presente en el río Sinú está subestructurada, conformada por al menos dos poblaciones diferenciadas genéticamente. Por otro lado en el estudio realizado en la cuenca del río Magdalena y sus tributarios fue posible detectar la existencia de estructuración poblacional identificando por lo menos tres poblaciones que coexisten y co-migran en el área muestreada, a pesar del alto flujo genético presente en la población debido a su comportamiento reproductivo. (Orozco 2014)

**3.5.3 Implicaciones para la conservación (Objetivo 3).** La población de bocachico enfrenta una situación crítica y alarmante en los ríos de nuestro país. El estado actual de la especie es muy delicada, al punto de reportarse como especie vulnerable por efecto de numerosas actividades antropogénicas (Mojica et al., 2012). Para el caso específico del río Catatumbo, la gran intervención humana derivada del vertimiento de aguas residuales y residuos sólidos de origen doméstico e industrial, deforestación, erosión, sedimentación, actividades petroleras, minería de carbón, cultivos como arroz, palma aceitera, plátano, pastos, ganadería, uso masivo de plaguicidas, biocidas y fertilizantes, extracción de agua, construcción de embalses, diques y canales, introducción de especies exóticas y transferidas, dragado del lago de Maracaibo para la navegación y actividades ilegales de grupos armados, amenazan la integridad biótica de los ecosistemas acuáticos y terrestres de la región (Colonnello y Lasso- Alcalá, 2011).

Todas estas actividades mencionadas anteriormente junto con la sobre pesca, han logrado que la población del bocachico en la cuenca del río Catatumbo disminuya al punto de considerar a esta especie en peligro de extinción. Tales impactos han conllevado a la implementación de estrategias tradicionales que plantean medidas de control como: la

prohibición de artes de pesca, vedas, tallas reglamentarias y repoblamiento. Hay que resaltar que la condición y estado del ecosistema y/o hábitat puede conllevar a una posible reducción poblacional y pérdidas significativas en su variabilidad genética, ya que este está fuertemente relacionado con la historia natural y ciclo de vida de una especie (Agostinho et al., 2005). La degradación y la fragmentación del ecosistema de ríos, son puntualizadas como las principales causas en la disminución de poblaciones de peces de importancia comercial (Agostinho et al., 1994; Orozco 2014). Sin embargo, han sido insuficientes las actividades desarrolladas para lograr la rehabilitación de la población en medio natural, se ha creado la necesidad de tomar medidas relacionadas con el banco genético in situ de la población de Bocachico presente en el río Catatumbo. Esta medida muestra al componente genético como una herramienta importante para dar un nuevo enfoque más acorde al estado actual de la especie en aras del manejo y conservación de la misma.

La diversidad genética es una de las tres prioridades globales para la conservación de la biodiversidad, considerándose esencial para la sobrevivencia de una población, teniendo en cuenta que su pérdida reduce la capacidad de adaptación frente a cambios ambientales y aumenta la probabilidad de extinción de la misma (McNeely et al., 1990, Orozco 2014). De acuerdo a esto, el caso de *P. reticulatus* aunque no ha sido reportada debido a la falta de estudios que lo certifiquen, esta especie según el presente trabajo y por su crítica y baja variabilidad genética se encuentra en un estado vulnerable por la sobreexplotación y mal uso del recurso hídrico en la cuenca del río Catatumbo y debe presentarse como un ejemplo de prioridad para la conservación.

Este estudio, mostró como las diferentes actividades antropogénicas han impactado negativamente la integridad genética de la población natural de Bocachico en el río Catatumbo, al registrar en los resultados: valores bajos en la variabilidad genética, la presencia de cuellos de botella reciente en cinco de las seis localidades muestreadas y la moderada diferenciación genética (subestructuración) de la población.

Acorde a este panorama, para la rehabilitación de *P. reticulatus* depende de la implementación de estrategias para la conservación de los ecosistemas (hábitat de la especie) y a la ejecución de programas de repoblación respaldados por los respectivos métodos genéticos. Con respecto a esta segunda estrategia, es indispensable que los centros piscícolas encargadas del cuidado de las poblaciones cautivas, consideren la subestructuración genética reportada en el presente estudio. Dicha diferenciación podría mantenerse seleccionando individuos representantes de esas poblaciones, acompañado de un manejo apropiado de los reproductores, para tratar de disminuir la probabilidad que se presenten eventos de entrecruzamiento, deriva genética y cuellos de botella en la población. Sumado a esto, se sugiere que los padrotes utilizados en los programas de repoblamiento, se recolecten cerca del sector en el que se realizará la repoblación, con el fin de respetar la integridad genética de cada localidad y mantener la estructura genética de cada población.

Para la implementación de medidas en la conservación de la población de bocachico, se debe tener en cuenta la diferenciación genética aquí registrada donde esta variabilidad puede ser mantenida por individuos representantes de dichas poblaciones bajo condiciones

de cautividad con un apropiado manejo de los reproductores evitando el riesgo de deriva genética, endocruzamiento y el apareamiento de cuellos de botellas en dichas poblaciones. Es importante tener en cuenta esta información, ya que si se desea utilizar como medida de mitigación y conservación a los repoblamientos, estos deben realizarse respetando la integridad genética de cada localidad. Por lo tanto, se sugiere que los padrotes utilizados en los repoblamientos, sean recolectados en inmediaciones al sector en el cual se realizará dicha actividad. Esto con el fin de no alterar la estructura genética de cada población.

En el campo de la genética de poblaciones, el presente estudio aporta un sinnúmero de herramientas que contribuyen al manejo y conservación del bocachico en la cuenca del río Catatumbo y sus tributarios. Entre las principales contribuciones se incluye: Primero; las localidades a lo largo de la cuenca del río Catatumbo, contiene núcleos poblacionales diferenciados indicando un alto flujo genético entre las localidades y segundo; que para fines de manejo, se considera que existen por lo menos tres poblaciones de bocachico presente en la cuenca del río Catatumbo.

## CONCLUSIONES

Con la utilización de *loci* microsatélite heterólogos específicos para *Prochilodus lineatus*, se logró producir un eficaz estudio de genética de poblaciones en el bocachico del Catatumbo *Prochilodus reticulatus* eficaz para la determinación de los niveles de variabilidad genética sobre la población caso de estudio, la cual presenta los resultados más bajos y críticos con respecto a otras especies estudiadas para Colombia y Suramérica, resaltando el estado crítico de la población presente en la cuenca del Catatumbo.

Fue posible la identificación de por lo menos tres poblaciones genéticas de *Prochilodus reticulatus* del medio natural distribuidas en las cuatro subcuencas del río Catatumbo como respuesta a una subestructuración debido a la fidelidad a los ríos donde nacieron cada una de estos individuos.

Las localidades del medio natural el río Zulia, Sardinata, Pamplonita y Algodonal requieren de la intervención de un programa de conservación de especies nativas para realizar y monitorear actividades de repoblación para tratar de conservar el recurso pesquero y así perpetuar la especie con poblaciones de bocachico con una variabilidad genética alta, con un volumen representativo para que puedan enfrentar el impacto generado por la sobrepesca y otro tipo de actividades que generan cuello de botella en las poblaciones de interés comercial.

Las cuatro subcuencas sometidas a estudio mostraron información valiosa para determinar el grado de variabilidad genética presente en la especie de *Prochilodus reticulatus*, cada uno de los individuos sometidos al presente estudio se encuentran en un peligro de extinción representado en los valores bajos en la variabilidad genética, la presencia de cuellos de botella reciente en cinco de las seis localidades muestreadas y la moderada diferenciación genética (subestructuración) de la población

Estos resultados ayudaron a comprender un poco la biología de esta especie y además puede ayudar para la toma de decisiones sobre el manejo y conservación del bocachico en la cuenca del Catatumbo.

Este estudio, muestra y confirma como las diferentes actividades antropogénicas han impactado negativamente la integridad genética de la población natural de Bocachico en el río Catatumbo, es hoy cuando se observa la necesidad de conservar cuando por muchos años el uso indiscriminado del recurso hídrico atentando contra la población natural de esta especie de interés comercial y base de la alimentación de muchas familias norte santandereanas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agostinho, AA., Júlio Jr, HF. and Petrere Jr, M., 1994. Itaipu reservoir (Brazil): impacts of the impoundment on the fish fauna and fisheries. In COWX, IG. (Ed.). Rehabilitation of freshwater fisheries. Osney Mead: Fishing News Books. p. 171-184

Aguirre-Pabón, J; Narváez Barandica, J and Castro García. L. 2013. Mitochondrial DNA variation of the bocachico *Prochilodus magdalenae* (Characiformes, Prochilodontidae) in the Magdalena River Basin, Colombia. Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst

Alam, M.S. y M.S. Islam. 2005. Population genetic structure of *Catla catla* (Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. Aquaculture 246:151-160. Regitano, L.C.A. 2001a. Introdução à análise de marcadores moleculares. Pages 25 39. In: Regitano, L.C.A. and L.L. Coutinho (eds.). Biología molecular aplicada à produção animal. EMBRAPA, Brasília, Brasil.

Atencio, V. Identificación de áreas de desove de las principales Especies reófilas en el río Sinú. En: Resúmenes de conferencias y exposiciones del IV Simposio Colombiano de Ictiología, Santa Marta, 7-10/Ago/97.

Arrieta, J. Evaluación de la variabilidad y estructura genética de la población silvestre y cultivada de bocachico *Prochilodus magdalenae* (characiformes: prochilodontidae) en la cuenca del río Sinú y en dos estaciones piscícolas del departamento de Córdoba-Colombia. Tesis de pregrado .2013. Universidad del Magdalena.

Awise, J.C. 2004. Molecular Markers, Natural History, and Evolution (Second Edition). Sinauer, Sunderland, MA. (684 pp.).

Barroca T, Arantes F, Magalhaes B, Siqueira F, Horta C, Pena I, Dergam J, & Kalapothakis E. 2012. Genetic diversity and population structure of *Prochilodus costatus* and *Prochilodus argenteus* preceding dam construction in the Paraopeba River, São Francisco River Basin, Minas Gerais, and Brazil. Open Journal of Genetics. 2:121-130.

Callen D.F., Thompson A.D., Shen Y., Phillips H.A., Richards R.I., Mulley J.C. and Sutherland G.R. 1993. Incidence and Origin of “Null” Alleles in the (AC)<sub>n</sub> Microsatellite Markers. Am. J. Hum. Genet. 52:922-927.

Campos W. Análise comparativa da variação genética entre os estoques cultivado e natural de *Prochilodus argenteus*: implicacoes para o repovoamento de rios. Tesis de Maestria. 2009. Sao Carlos. UFSCar.

Castro, R & Vari R.. Detritivores of the South American fish family Prochilodontidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes): a phylogenetic and revisionary study. Smithsonian contributions to Zoology. N 622. Washington DC. Smithsonian books.189 p

- Castañeda, D. 2012. Evaluación de la calidad genética de sistemas de reproductores de bocachico *Prochilodus magdalenae* (pisces: prochilodontidae) usados para repoblamiento en dos estaciones piscícolas. Tesis de Pregrado Universidad del Magdalena. 2004
- Castiblanco, J. 2003. Caracterización genética de dos poblaciones de tilapia (*oreochromis niloticus*) en la cuenca del río Sinú. Bogotá, Colombia: Departamento de biología. Universidad de los Andes. 180.
- Carvalho-Costa, L.F., T. Hatanaka & P.M. Galetti Jr., 2008. Evidence of lack of population substructuring in the Brazilian freshwater fish *Prochilodus costatus*. *Genetics and Molecular Biology* 31(1) (suppl): 377-380.
- Colonnello, G. y O. Lasso-Alcalá. 2011. Diagnóstico ambiental de la Cuenca del Lago de Maracaibo, Venezuela. Capítulo 4, Pp: 63-80. *En: Experiencias en la aplicación del enfoque GEO en la evaluación de ecosistemas degradados de Iberoamérica*. A. Volpedo, L. Fernández Reyes y J. Buitrago (Eds.). RED CYTED, Desarrollo de metodologías, indicadores ambientales y programas para la evaluación ambiental integral y la restauración de ecosistemas degradados. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Buenos Aires, Argentina.
- Darkin E & Avise J. 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity*. 93:504-509.
- De Leon. F, Chikhi. L & Bonhomme, F. 1997. Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural population of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1785). *Molecular ecology*, 6:51-62.
- DeWoody JA & Avise, J. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *J Fish Biol* 56:461-473.
- Evanno. G, Regnaut, S & Goudet, J. 2005. Detecting the number of cluster of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*. v 14. Pags 2611-2620.
- Ferguson, M.. & R. Danzmann. 1998 Role of genetic markers in fisheries and aquaculture: useful tools or stamp collecting? *Can.J. Fish. Aquat. Sci.* 55:1553-1563.
- Ferreira, M.E. y D. Grattapaglia. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares en análise genética. EMBRAPA, Brasilia. 220 pp.
- Gallo, H. y Díaz-Sarmiento, J. 2003. Variabilidad genética del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum*, (Pises: Pimelodidae) en el río Magdalena (Colombia). *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 27 (105): 599-605.
- Galvis, G, J. I. Mojica y M. Camargo. 1997. Peces del Catatumbo. Ecopetrol-Oxy-Shell-Asociación Cravo Norte. D'Vinni Edit. Ltda. Bogotá D.C., Colombia, 188 pp

- Gatz, A.J 1979. Community organization in fishes as indicated by morphological features. *Ecology* 60: 711-718
- Goudet, J. 2001. FSTAT: A program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3).
- Guo S.W. & Thompson E.A. 1992. Performing the Exact Test of Hardy-Weinberg Proportion for Multiple Alleles. *Biometrics* 48: 361-372
- Hartl, D.L. & Clark A. 1997. Principles of population genetics. 3 ed. Sinauer Associates, Sunderland, EE.UU. 542 p
- Hatanaka T, Silva FH y Galetti Jr PM. 2006. Population substructuring in a migratory freshwater fish *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the São Francisco River. *Genetica* 126:153-159.
- Hedrick, P.W. 1999. Perspective: highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution*. 53:313-318.
- Hedrick P.W., Parker K.M. & Lee R. 2001. Genetic variation in the endangered Gila and Yaqui topminnows: microsatellite and MHC variation. *Mol. Ecol.*, 10, 1399–1412.
- Hubisz, M.J., Falush, D., Stephens, M & Pritchard, J.K. 2009, Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol. ECollect. Res.* 9(5): 1322-1332.
- IGAC. 2003. Atlas Básico de Colombia, 5a edición. Bogotá, Imprenta Nacional de Colombia, 342 pp.
- Julio, Y.P. 2013. Evaluación de las relaciones y diferencias genéticas de los Bocachicos *Prochilodus magdalenae* (Characiformes, Prochilodontidae) que toman dos rutas migratorias en la parte baja de la cuenca del río Magdalena-Colombia
- Laikre, L; Palm, S & Ryman, N. 2005. Genetic population structure of fishes: implications for coastal zone management. *Ambio* v 34 n 2. P 111-119.
- Kovac. 1999. ...
- López, L. 2006. Genetic variability and population structure of dorada (*Bryconmoorei sinuensis* Dahl) in the Sinú River, Córdoba, Colombia. *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 11: 1–7.
- Luikart G., Allendorf F.W., Cornuet J.M. and Sherwin W.B. 1998. The American Genetic Association 89:238-247.

Maldonado-Ocampo, J. A., A. Ortega-Lara, J. S. Usma Oviedo, G. Galvis, F. Villa-Navarro, L. Vásquez, S. Prada-Pedrerros y C. A. Rodríguez. 2005. Peces de los Andes de Colombia. Guía de campo. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, Colombia, 346 pp.

Mia, M.Y., J.B. Taggart, A.E. Gilmour, A.A. Gheyas, T.K. Das, H.M. Kohinoora, M.A. Rahman, M.A. Sattar, M.G. Hussain, M.A. Mazid, D.J. Penman y B.J. Mcandrew. 2005. Detection of hybridization between Chinese carp species (*Hypophthalmichthys molitrix* and *Aristichthys nobilis*) in hatchery broodstock in Bangladesh, using DNA microsatellite loci. *Aquaculture* 247:267-273.

Millán C., G.A., 2003. Guía para el manejo, cría y conservación del Bocachico *Prochilodus magdalenae* Steindachner. Convenio Andrés Bello-Ministerio de Educación y Cultura de España, Bogotá, Colombia. 50 p.

McNeely. JA, Miller KR, Reid WV, Mittmeier RA & Werner TB. 1990. Conserving the world biological diversity. Switzerland: World Conservation Union. Publication services.

Mojica, J.I., G. Galvis, P. Sánchez-Duarte, C. Castellanos & F.A. Villa-Navarro. 2006. Peces del valle medio del río Magdalena, Colombia. *Biota Colomb.* 7: 23-38.

Muñoz, L.E. 2013. Establecimiento de dos lotes de reproductores de bocachico *Prochilodus magdalenae* (characiformes, prochilodontidae) utilizando criterios genéticos para obtener progenies con fines de repoblamiento. Tesis de pregrado Universidad del Magdalena.

Nei, M., 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, Nueva York, 597 p.

Narváez, J.C. 2006. Evaluación de la estructura genética y morfométrica de las poblaciones de tilapia (pisces: cichlidae: *Oreochromis*) en algunas ciénagas del norte de Colombia. Tesis de Maestría Universidad Nacional de Colombia.

Orozco-Berdugo, G. 2013. Evaluación de la estructura genética de la población de bocachico *Prochilodus magdalenae* (characiformes, prochilodontidae) en la cuenca del río Magdalena y sus principales tributarios - Colombia. Tesis de maestría. Universidad del Magdalena.

O'Connell, M. and Wright, J. 1997. Microsatellite DNA in Fishes. *Rev Fish Biol and Fisheries*; 7:331-363.

Østergaard, S.; Hansen, M; Loeschcke, V; Nielson, E. 2003. Long-term temporal changes of genetic composition in brown trout (*Salmo trutta L.*) populations inhabiting an unstable environment. *Molecular Ecology*. 12: 3123–3135.

Pemberton J.M., Slate J., Bancroft D.R y Barret J.A. 1995. Nonamplifying alleles at microsatellite loci: a caution for parentage and population studies. *Molecular Ecology* 4: 248-252.

- Pineda, H. 2004. Estudio genético de las cachamas (subfamilia Serrasalminae) en poblaciones naturales y en cautiverio en Colombia. *Rev Col CiencPec* 17: 62-63.
- Pineda, H.; Arboleda, L.; Echeverry, A., Urcuqui, S.; Pareja, D.; Olivera, M. y Builes J. 2007. Caracterización de la diversidad genética en el pez *Bryconhenni* (Characiformes: Characidae) en Colombia central por medio de marcadores RAPD. *Rev. Biol. Trop.* Vol. 55 (3-4): 1025-1035.
- Rodríguez, G. 2000. El manejo de los recursos naturales del sistema de Maracaibo. Pp: 91-110. *En: El Sistema del Lago de Maracaibo Biología y Ambiente*. 2da Edición.
- Rodríguez, D. M., R. Restrepo, J. I. Mojica, V. Arellano, F. Quintero, J. Rodríguez-Grau, G. Rodríguez, I. Galindo, E. Abreu, N. García-Tavel y J. Vilas-Liñeira. 1996. Monitoreo biológico y químico de la cuenca del río Catatumbo. ECOPETROL, INTEVEP y PDVSA. Colombia y Venezuela, 111 pp.
- Romana-Eguia, M.R.R., M. Ikeda, Z.U. Basiao y N. Taniguchi. 2004. Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stocks evaluated from microsatellite and mitochondrial DNA analysis. *Aquaculture* 236:131-150.
- Rueda E, Sommer J, Scarabotti P, Markariani R & Ortí G. 2011. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the migratory freshwater fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes: Prochilodontidae). *Conservation Genetics Resource*. V 3. n 4. Pags 681-684.
- Sanches A. 2007. Estrutura genética populacional de *Brycon hilarii* na sub-bacia do rio Miranda, e seu significado para programas de conservação. Tesis de doctorado. San Carlos. UFSCar.
- Sanches A, Galetti Jr. P, Galzerani F, Derazo J, Cutilak-Bianchi B & Hatanaka T. 2012. Genetic population structure of two migratory freshwater fish species (*Brycon orthotaenia* and *Prochilodus argenteus*) from the São Francisco River in Brazil and its significance for conservation. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 40(1): 177-186.
- Santacruz-Beltrán, D.H. 2003. Evaluación de la variabilidad genética con marcadores microsatelites del bocachico *Prochilodus magdalenae* (Steindachner 1878) en el Río Sinú, Colombia. Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 126 p
- Silva, A. 2011. Estructura genética populacional de *Prochilodus costatus* Valenciennes 1850 (Characiformes: Prochilodontidae) no alto Sao Francisco. Tesis de Maestría. Universidad Federal de San Carlos.
- Xu. Z, Primavera. J, De la pena. L, Petit. P, Belak. J & Alcivar-Warren. A. 2001. Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp *Penaeus monodon* in the Philippines using microsatellite. *Aquaculture* 199:13-40

Van Oosterhout C, Hutchinson, WF, Wills DPM and Shipley P (2004) MICROCHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3): 535-538.

Vrijenhoek, R. 1998 Conservation genetics of freshwater fish. *Journal of Fish Biology* 53 (Supplement A): 394-412.

Wasko AP & Galetti Jr P. 2003. PCR primed with minisatellite core sequences yields species-specific patterns and assessment of population variability in fishes of genus *Brycon*. *J. Appl. Ichthyol.* 109-113.

Watson, D.J. & E.K. Balon 1984. Ecomorphological analysis of fish faunas in rainforest streams of northern Borneo. *J Fish Biol.* 25: 371-384

Yan, J., S., Liu, Y. Sun, C. Zhang, K. Luo y Y. Liu. 2005. RAPD and microsatellite analysis of diploid gynogens from allotetraploid hybrids of red crucian carp (*Carassius auratus*) X common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 243:49-60.