

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE REPRODUCTORES DE BOCACHICO
Prochilodus magdalenae (PISCES: PROCHILODONTIDAE) USADOS EN
PROGRAMAS DE REPOBLAMIENTO EN COLOMBIA.

JUAN CARLOS DE LA ROSA SERRANO

FACULTAD DE INGENIERÍA
MAESTRÍA EN ACUICULTURA
UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA
SANTA MARTA

2018

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE REPRODUCTORES DE BOCACHICO
***Prochilodus magdalenae* (PISCES: PROCHILODONTIDAE) USADOS EN**
PROGRAMAS DE REPOBLAMIENTO EN COLOMBIA.

Tesis de grado para optar el título de magister en acuicultura

JUAN CARLOS DE LA ROSA SERRANO

DIRECTORES:

M.Sc GILBERTO JR OROZCO BERDUGO

M.Sc JUAN CARLOS NARVÁEZ BARANDICA

FACULTAD DE INGENIERÍA

MAESTRÍA EN ACUICULTURA

UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA

SANTA MARTA

2018

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

Contenido

LISTA DE FIGURAS	4
LISTA DE TABLAS	5
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
1. PRESENTACIÓN.....	8
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
3. ANTECEDENTES.....	12
4. MARCO TEÓRICO	15
4.1. Clasificación Taxonómica del Bocachico (<i>P. magdalенаe</i>)	15
4.2. Aspectos Biológicos del Bocachico (<i>P. magdalенаe</i>)	15
4.3. Peces Mantenidos en Cautiverio	16
4.4. Marcadores Moleculares	16
5. JUSTIFICACIÓN.....	19
6. OBJETIVOS	21
6.1. Objetivo general	21
6.2. Objetivos específicos	21
7. METODOLOGÍA	22
7.1. Fase de campo.....	22
7.2. Fase de laboratorio.....	23
7.3. Análisis de datos.....	24
8. RESULTADOS.....	27
8.1. Diversidad genética.....	27
8.2. Estructura genética	29
9. DISCUSIÓN	31
9.1. Diversidad genética.....	31
9.2. Estructura genética	33
10. CONCLUSIONES.....	36
11. RECOMENDACIONES	37
12. BIBLIOGRAFÍA.....	38
13. ANEXOS	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ilustración de *Prochilodus magdalenae* (Realizada por Maria José Cárdenas).

Figura 2. Ubicación geográfica de cada uno de los centros piscícolas del presente estudio.

Figura 3. Estructura genética poblacional estimada para *P. magdalenae* a través del programa STRUCTURE.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Descripción los microsatélites utilizados. Motivo de repetición, Temperatura °C, N_A ; Número de alelos, Tamaño en pares de bases. Tomado y modificado de Rueda *et al.* (2011).

Tabla 2. Tabla general de resultados. Tamaño de la muestra (N), Número de alelos (Na), Diversidad observada (H_o), Diversidad esperada (H_e), Índice de fijación (F), P-valor (P).

Tabla 3. Valores de F_{st} por debajo de la diagonal y valores de $PhiPT$ por encima de la diagonal.

Tabla 4. Análisis Molecular de Varianza AMOVA realizado para las estaciones piscícolas teniendo en cuenta el agrupamiento por origen de individuos en las estaciones.

RESUMEN

El Bocachico, conocido científicamente como *Prochilodus magdalenae*, es una especie de pez endémico de Colombia, con patrones migratorios de larga distancia y de un importante interés comercial. Un decrecimiento poblacional se ha venido documentando en esta especie por diferentes factores tales como sobrepesca, fragmentación de ecosistemas, contaminación del agua, entre otros. Lo que ha llevado a la necesidad de implementar programas de repoblamiento que no están bien regulados, lo que puede contribuir a la homogenización del pool genético de la especie. Esta problemática, generó la necesidad de caracterizar la diversidad genética del Bocachico. En este sentido, a través del uso de marcadores moleculares microsatélites, se analizaron métricas tales como heterocigosidad observada, esperada, número de alelos, índices de fijación, entre otros, en reproductores de Bocachico que son usados para hacer repoblamientos en algunos tributarios de Colombia. Los resultados muestran una baja variabilidad genética observada, que se correlaciona fuertemente con procesos de endogamia, los cuales contrastan con la alta variabilidad genética esperada soportada con la cantidad de alelos detectados en las localidades de estudio. Adicionalmente, una moderada diferenciación genética fue detectada y a través de un agrupamiento bayesiano se pudo verificar la existencia de tres poblaciones de Bocachico, distribuidos en los siete centros piscícolas.

Palabras clave: Repoblación, índices de diversidad, reproducción, conservación.

ABSTRACT

The Bocachico, known scientifically as *Prochilodus magdalenae* is a species of fish endemic to Colombia, with long-distance migration patterns and an important commercial interest. A population decrease has been documented in this species by different factors such as overfishing, fragmentation of ecosystems, water pollution, among others. This has led to the need to implement repopulation programs that are not well regulated, which may contribute to the homogenization of the genetic pool of the species. This problem generated the need to characterize the genetic diversity of Bocachico. In this sense, through the use of microsatellite molecular markers, we analyzed metrics such as observed, expected heterozygosity, number of alleles, fixation indexes, among others, in Bocachico breeding animals that are used to make repopulations in some tributaries of Colombia. The results show a low genetic variability observed, which correlates strongly with endogamy processes, which contrast with the high expected genetic variability supported with the number of alleles detected in the study locations. Additionally, a moderate genetic differentiation was detected and through a Bayesian grouping it was possible to verify the existence of three populations of Bocachico, distributed in the seven fish centers.

Keywords: Repopulation, indexes of diversity, reproduction, conservation.

1. PRESENTACIÓN

El género *Prochilodus*, está conformado por 13 especies válidas y distribuidas en los ríos suramericanos que desembocan en el Océano Atlántico (Castro & Vari, 2004). Además, son considerados como los peces más conspicuos y abundantes de las aguas continentales suramericanas, que realizan grandes migraciones y mantienen parte de las pesquerías del continente (Welcomme, 1979; Sivasundar *et al.*, 2001).

En Colombia existen varias especies pertenecientes al género *Prochilodus*, siendo *P. magdalenae* (Steindachner, 1878) el más importante por ser endémica de la cuenca de los ríos Magdalena, Sinú y Atrato (Maldonado-Ocampo *et al.*, 2008) y la más representativa de la ictiofauna colombiana (Olaya-Nieto *et al.*, 2003), jugando un papel muy importante a nivel socioeconómico para muchas familias en las cuencas donde habita ya que obtienen el sustento a través de ella. Sin embargo, la reducción de su abundancia en los últimos años la convierte en una de las principales especies de las pesquerías que se encuentran en estado vulnerable (Mojica *et al.*, 2012). La contaminación, sedimentación de los ríos, construcción de hidroeléctricas y sobre todo la pesca excesiva e introducción de especies foráneas han sido puntualizadas como las principales causas de afectación de las comunidades de peces migratorios (Agostinho *et al.*, 2005; Hatanaka *et al.*, 2006).

Existen diversas herramientas de manejo para mitigar los efectos negativos que actualmente están atravesando las poblaciones de Bocachico, entre las que podemos resaltar el repoblamiento. Esta es una de las estrategias más utilizadas para la rehabilitación pesquera en esta especie, actuando como una medida mitigadora a corto plazo, que se fundamenta en el incremento de la abundancia en el medio natural. Sin embargo, la eficiencia de estos programas es cuestionable en cuanto a sus resultados, ya que se realizan sin criterios científicos (entre ellos los genéticos) que respalden dicha acción, lo cual puede magnificar la problemática de su conservación, llevando a una pérdida de variabilidad genética de las poblaciones receptoras, debido al inadecuado manejo que se les dan a los reproductores provenientes de las estaciones piscícolas.

De acuerdo a lo anteriormente descrito, el presente trabajo tiene como objetivo caracterizar genéticamente los reproductores de Bocachico *Prochilodus magdalenae* usados en programas de repoblamiento en Colombia.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Colombia se reconoce como uno de los países con mayor abundancia en recursos hídricos en América (IDEAM, 2014). Cuenta con diferentes cuencas entre ellos la del río Magdalena que representa un importante núcleo tanto económico como cultural y biológico, dada la diversidad de especies que alberga (Jiménez-Segura *et al.*, 2010). Dentro de las especies de peces que habitan en esta cuenca, se destaca la presencia de *Prochilodus magdalenae* Steindachner, 1879; conocida como Bocachico (Maldonado-Ocampo *et al.*, 2005). Esta especie es endémica del río Atrato, Magdalena y Sinú (Mojica *et al.*, 2012) y resulta ser importante no solo por su rol ecológico dentro del ecosistema, sino también por el hecho de que representa el ingreso económico de las comunidades ribereñas asociadas a la pesca como actividad de sustento.

No obstante, esta especie actualmente se encuentra en estado de amenaza (Mojica *et al.*, 2012) por factores que han deteriorado gravemente las condiciones de su hábitat tales como la sobreexplotación de recursos, disminución de la calidad del agua y/o fragmentación de hábitat (Fontalvo *et al.*, 2018). Estas problemáticas se hacen más visibles cuando se analiza la situación actual de su pesquería, ya que los datos de desembarcos pesqueros han mostrado una tendencia decreciente, teniendo en cuenta que en 1992 se capturaron 24870 toneladas (CCI, 2006) y al 2016 la captura por año no sobrepasó las 2000 toneladas (SEPEC, 2016). Cabe resaltar que, menos del 50 % de los individuos capturados no logra alcanzar la maduración, ya que la pesca se hace más intensa durante su época de migración (CCI, 2006; Martínez *et al.*, 2006).

Debido a lo anterior, se considera que dichos factores han alterado los procesos biológicos y ecológicos de la especie, a tal punto que ha sido necesario desarrollar investigaciones en pro de la conservación de la misma (Atencio, 2001; Cortés, 2003; Maldonado-Ocampo *et al.*, 2005; Jiménez-Segura *et al.*, 2010). En este sentido, se han realizado estudios para la conservación (Cortés, 2003; Maldonado-Ocampo *et al.*, 2005), reproducción en cautiverio (Atencio, 2001; Cortés, 2003) y a nivel genético del Bocachico (Orozco y Narváez, 2014; Guevara, 2015; Fontalvo *et al.*, 2018), que han permitido documentar las consecuencias de las problemáticas ya mencionadas. No obstante, para mitigar el impacto sobre las poblaciones de *P. magdalenae*, se han implementado medidas tradicionales como la veda, prohibición de artes de pesca, tallas reglamentarias y los repoblamientos (Machordon *et al.*,

1999). Donde esta última, busca minimizar el riesgo de extinción de la especie, intentando aumentar la abundancia de las poblaciones en el medio natural.

Sin embargo, los repoblamientos en Colombia no están debidamente regulados, por lo que se desconocen los criterios técnicos y científicos que permitan implementar una metodología efectiva (Arrieta, 2013).

De este modo, pocos estudios se han desarrollado para reconocer el estado genético en que se encuentran las poblaciones de Bocachico en las diferentes cuencas donde habita (Orozco & Naváez, 2014), que permita identificar los sectores que deban ser priorizados para conservar. Además, la traslocación arbitraria entre cuencas, fomenta el rompimiento de la integridad genética de las poblaciones y desmejora el acervo genético que manejan los centros piscícolas que se encargan de los repoblamientos. Esto genera que se disminuya el tamaño efectivo de las poblaciones de reproductores utilizados para diferentes actividades piscícolas (Machordon *et al.*, 1999).

Así mismo es probable que las estaciones piscícolas públicas y privadas que fomentan el repoblamiento de *P. magdalенаe* estén realizando cruces entre individuos emparentados, trayendo como consecuencia el aumento de la endogamia (Kang *et al.*, 2006); debido a la selección de un número insuficiente de individuos para establecer los lotes de reproductores (Aho *et al.*, 2006). Esta es una de las situaciones más comunes que se presentan en las estaciones piscícolas, ya que forman sus nuevos lotes de reproductores basándose solamente en los tamaños de los individuos y de aquellos con mejores condiciones reproductivas. Si se lograra conocer la información genética de los reproductores, se podrían proponer sistemas de cruces para tratar de minimizar el riesgo de producir progenies con altos niveles de endogamia. De acuerdo a esto, es necesario conocer las características genéticas de todo el plantel de reproductores de una estación piscícola y con base a la información generada redirigir estos programas para poder producir animales con mejores condiciones genéticas y que se refleje en las poblaciones naturales repobladas (Santacruz, 2003; Lopez, 2006; Lopera-Barrero *et al.*, 2008; Povh *et al.*, 2008).

Teniendo en cuenta lo anterior, se hace evidente la necesidad de suministrar pautas que permitan modificar y mejorar los protocolos utilizados durante los repoblamientos para la conservación del Bocachico en Colombia. Por lo que se hizo necesario analizar el estado de la diversidad y estructura genética de *P. magdalенаe* en centros piscícolas provenientes de diferentes cuencas donde este habita, que permitan conocer el estado de la variabilidad

genética de la especie en cada centro piscícola y de esta manera poder proponer pautas para generar estrategias de manejo para conservación.

3. ANTECEDENTES

Los repoblamientos pesqueros implementados como mecanismo eficaz, para la recuperación de los recursos biológicos de las cuencas, resultan ser muy importantes para la conservación de la biodiversidad. Para ello, el principal objetivo de estos mecanismos, es liberar alevinos previamente producidos en centros piscícolas, al medio natural, de tal manera que se pueda recuperar el potencial desovante de las poblaciones afectadas, para que puedan generar sustento a las comunidades (Bell *et al.*, 2008). Sin embargo, cuando estos repoblamientos se realizan sin un análisis previo sobre la variabilidad genética de los individuos, se puede generar una pérdida de genes que finalmente, termina por afectar las poblaciones en lugar de recuperarlas (Agostinho *et al.*, 2005).

En este sentido, el uso de estas estrategias para minimizar impactos ambientales causados por influencia antropogénica, se ha evaluado desde diferentes enfoques. En este sentido, desde un punto de vista morfológico, la reproducción artificial inicialmente fue descrita por Atencio (2001), quien estudio las diferencias entre los métodos húmedo y seco, para producción de larvas de Bocachico y otras especies nativas. Atencio (2001), encontró que las diferencias entre rendimientos de ambos métodos, sugiere que el método seco presenta mejores tasas de fertilización dado el estrés que produce en los reproductores.

Investigaciones posteriores desde el punto de vista morfológico, sugieren que la aplicación de estos métodos para reproducción artificial, es variable entre especies. Por ejemplo, Lopera-Barrero *et al.*, (2008) analizan el desempeño en las tasas de fertilización entre *Piaractus mesopotamicus* y *Prochilodus lineatus* y sugieren que efectivamente, el método seco implica la extracción de huevos antes del tiempo ideal, generando poca viabilidad y que no haya altas tasas de fertilización. Sin embargo, destacan el hecho de que puede existir mayor cantidad de alelos, debido a que se da la participación de varios reproductores. No obstante, Lopera-barrero *et al.*, (2008) no descartan la selección natural que efectivamente incide sobre los eventos reproductivos en el método húmedo, que puede disminuir la variabilidad genética. Finalmente, Povh *et al.*, (2008) en su análisis con *P. mesopotanicus* concluye que la variabilidad genética es mayor en los programas de repoblamiento, cuando se realizan con el método húmedo.

Por otro lado, desde el punto de vista genético, la implementación de técnicas moleculares ha sido la herramienta más útil para evaluar la diversidad genética de los reproductores y

sus progenies como objetos de repoblamiento. De esta manera, el uso de marcadores moleculares como los microsatélites en poblaciones de peces permite establecer pautas para un manejo adecuado de los individuos de los programas de reproducción artificial (O'Connell M & Wright J, 1997). En este sentido, la selección de los reproductores debe ser verificada para evitar que estos estén emparentados con poblaciones silvestres (Santacruz *et al.*, 2003; Lopera-Barrero *et al.*, 2008). Se debe tener en cuenta también que exista un equilibrio entre la cantidad de hembras y machos utilizados en los eventos reproductivos (Lopes *et al.*, 2008), considerando de esta manera un número grande de reproductores (Aho *et al.*, 2006). Finalmente, diversos autores recomiendan identificar los lotes de los cuales provienen los reproductores y un monitoreo periódico de los centros piscícolas (Aho *et al.*, 2006; Lopera-Barrero *et al.*, 2007).

Otros estudios realizados con marcadores moleculares microsatélites, con fines de repoblamiento de la especie *Prochilodus argenteus* sugieren que las poblaciones utilizadas en los centros piscícolas presentan menor variabilidad genética en comparación con poblaciones naturales (Campos, 2009). De esta manera, queda en evidencia la necesidad de implementar herramientas moleculares para los programas de repoblamiento. Cabe resaltar que, en Colombia, los estudios relacionados con diversidad genética de peces dulceacuícolas son pocos. En *Prochilodus magdalenae* se han realizado trabajos de conservación y cultivo (Atencio *et al.*, 2003; Valderrama & Solano, 2004; Martínez *et al.*, 2006) y relacionados con aspectos genéticos de la especie, se destacan los realizados por Santacruz (2003) en el río Sinú, y Aguirre (2013); Orozco (2013); Orozco & Narváez (2014); Guevara (2015) y Fontalvo *et al.*, (2018) en el río Magdalena.

De esta manera, el trabajo realizado en el río Sinú por Santacruz (2003) permitió detectar que el impacto genético entre las poblaciones cultivadas de Bocachico provenientes de los programas de repoblamiento y las silvestres presentes en el río, si presenta diferencias significativas en cuanto a la variabilidad genética. En este sentido, Santacruz (2003) pudo suministrar recomendaciones técnicas que permitirían a futuro reducir el impacto sobre la variabilidad genética de la especie.

Por otro lado, los trabajos realizados en el río Magdalena utilizando microsatélites, sugieren que en general las poblaciones si presentan una baja variabilidad genética, relacionada con la fragmentación del hábitat a lo largo del río (Fontalvo *et al.*, 2018), contaminación del recurso hídrico (Orozco & Narváez, 2014) y programas de repoblamiento mal direccionados (Guevara, 2015). Estos trabajos, muestran también que existe estructuración

en las poblaciones presentes en la cuenca del Magdalena y que puede estar relacionada con los periodos de desove y ondas reproductivas (Orozco & Narváez, 2014; Fontalvo *et al.*, 2018).

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Clasificación Taxonómica del Bocachico (*P. magdalenae*)

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Clase: Actinopterygii

Subclase: Neopterygii

Infraclase: Teleostei

Superorden: Ostariophysi

Orden: Characiformes

Familia: Prochilodontidae

Género: *Prochilodus*

Especie: *P. magdalenae*



Figura 1. Ilustración de *Prochilodus magdalenae* (Realizada por María José Cárdenas).

4.2. Aspectos Biológicos del Bocachico (*P. magdalenae*)

Su principal hábitat lo constituyen los cuerpos de agua lenticos en la parte media y baja de los ríos, siendo su fuente de alimento el detritus (Román, 1993). El Bocachico (Figura 1) es una especie migratoria cuyo ciclo de vida está relacionado con los patrones hidrológicos de inundación y estiaje de la cuenca de los ríos. Abandona las ciénagas en aguas bajas y remonta los ríos en busca de los tributarios laterales, en una migración masiva conocida como “subienda”. Desova en el canal principal del río con el comienzo de las crecientes

(Jiménez-Segura, 2007). Posteriormente, durante las crecientes, retorna a las ciénagas junto con su cría en una nueva migración llamada “bajanza” (Mojica *et al.*, 2002). En el río Magdalena la especie tiene dos periodos reproductivos sincronizados con el régimen hidrológico bi-modal de esta cuenca (Jiménez-Segura, 2007). La postura de las hembras puede variar aproximadamente entre 80.000 y 100.000 huevos, dependiendo de la talla. Presenta desoves totales, con fecundación externa y no tienen cuidado parental (Kamler, 1992).

4.3. Peces Mantenidos en Cautiverio

Los peces mantenidos en cautiverio se adaptan genéticamente al nuevo ambiente y estas adaptaciones son perjudiciales cuando las progenies son liberadas al medio natural. Entre estos efectos se encuentra la pérdida de algunos genes que eran importantes o la introducción de un nuevo material genético que sea perjudicial para el ambiente (Frankham, 2008). Cuando se tienen programas de repoblamiento se debe tener en cuenta que hay que minimizar la adaptación genética de los individuos cautivos de la siguiente manera: reducir el número de generaciones de los individuos mantenidos en cautiverio y mantener varias poblaciones en vez de una población grande (Christie *et al.*, 2011).

4.4. Marcadores Moleculares

Los marcadores moleculares constituyen una herramienta realista y útil para la investigación y el monitoreo de la condición genética tanto de las poblaciones nativas como de las mantenidas en cautiverio (Alam e Islam, 2005). Uno de los marcadores más utilizados son los microsatélites, debido a que permiten de manera más acertada analizar la variabilidad genética de una población, mediante la diferenciación del heterocigoto del homocigoto (amplifican alelos biparentales y codominantes), y de la detección de polimorfismo detectando los diferentes estados de un alelo (variantes alélicas) (Sunnucks, 2000).

Los microsatélites consisten en múltiples copias de secuencias simples repetidas de uno a seis pares de bases organizadas en tándem (Liu & Cordes, 2004). La mayoría de los microsatélites son de tamaño relativamente pequeño, partiendo de algunos pocos repetidos hasta algunos cientos. Este tamaño relativamente pequeño facilita la reacción en cadena de la polimerasa necesaria para su resolución. Se ha observado que los microsatélites

formados por un número mayor de repeticiones se relacionan con un mayor polimorfismo (Liu & Cordes, 2004). El uso de técnicas como electroforesis capilar, ha ayudado a aumentar la capacidad de procesamiento de muestras, facilitando y promoviendo el uso de los microsatélites. Es por lo anterior que son los marcadores ampliamente usados para el manejo de lotes de reproductores en la acuicultura (Alam e Islam, 2005; Povh *et al.*, 2008).

Por presentar estas ventajas, los microsatélites han sido catalogados como los más eficientes para evaluar la variabilidad y estructura genética de poblaciones de peces mantenidas en cautiverio y de forma natural. Por tal motivo, estudios realizados acerca de variación y estructura genética han utilizado *loci* microsatélites, los cuales tienen en cuenta ciertos parámetros genéticos de la población objetivo; entre los que sobresalen los siguientes:

- a) Diversidad genética es una variación de la información genética, presente en formas alternativas dentro de un mismo individuo o dentro de la misma población (Balding *et al.*, 2007). Esta diversidad es una medida importante para conocer la adaptación de las especies a su ambiente y su capacidad de responder rápidamente a los cambios que ocurren del mismo (Hartl & Clark, 1997). Una medida fácil para detectar la variabilidad genética de una población es la heterocigosidad, debido a que cada heterocigoto presenta diferentes alelos y representa la existencia de variación, por lo que se designa como un elemento positivo desde el punto de vista evolutivo (Weir, 1996). Sin embargo existen descriptores para evaluar la variación genética entre las cuales se encuentran: Polimorfismo (P), es el número de *loci* en la población que presentan más de un alelo; Alelos por locus (AL), es el número de alelos encontrados sobre el número de *loci* examinados; Frecuencias de los alelos: (Pi), se calcula mediante el conteo alélico (Weir, 1996); Heterocigosidad observada (Ho), es la frecuencia observada de individuos heterocigotos para un locus en una población y la Heterocigosidad esperada (He), es la proporción de individuos heterocigotos para un locus en una población.
- b) El principio de Hardy-Weinberg establece que, en una población suficientemente grande, en la que los apareamientos se producen al azar y que no se encuentra sometida a mutación, selección o migración, las frecuencias génicas y genotípicas se mantienen constantes de una generación a otra, y a la vez presentan una relación simple entre las mismas (Guo & Thompson, 1992). Cuando ocurre alguna alteración

de las frecuencias, estas restablecerán el equilibrio tras una generación de apareamiento aleatorio. Estas alteraciones pueden darse por: a) endogamia, la cual se presenta cuando se genera un aumento de la homocigosidad en todos los genes por el cruce de animales emparentados (Povh *et al.*, 2006) b) el cruce selectivo, que puede proporcionar una gran reducción de la variabilidad genética en las siguientes subgeneraciones (Povh *et al.*, 2006). Esto ocurre frecuentemente en las estaciones piscícolas; c) la población de tamaño reducido, que causa un cambio aleatorio en las frecuencias genotípicas, especialmente si la población es muy pequeña. (Wasko *et al.*, 2004).

- c) Estadísticos F de Wright: permiten evaluar la diferenciación de una población de organismos. Estos índices fueron descritos por Wright con el fin de evaluar el efecto de la endogamia sobre la estructura poblacional. Entre estos parámetros encontramos el (F_{is}), el cual mide el grado de endogamia de las poblaciones. Este último puede suministrar valores que varían entre cero y uno, indicando que aquellos cercanos al primero no hay endogamia y los cercanos al segundo que si la hay (Wright, 1969; Hartl & Clark, 1997).

5. JUSTIFICACIÓN

Prochilodus magdalenae conocido comúnmente como Bocachico, es una especie de pez reofílico endémico de la cuenca de los ríos Magdalena, Sinú y Atrato en Colombia (Mojica *et al.*, 2014). Sus ciclos migratorios se encuentran asociados a los patrones hidrológicos del río, presentando así dos picos reproductivos al año (Jiménez-Segura *et al.*, 2014). Dentro de las características morfológicas que lo constituyen, se destaca la presencia de una espina pre-dorsal y línea lateral (Mojica *et al.*, 2014), tal como se observa en la Figura 1. Este pez, de importancia comercial para las comunidades ribereñas del Magdalena, es una de las especies con mayor representación cultural y gastronómica de la región (Maldonado-Ocampo *et al.*, 2005).

Adicionalmente, posee un importante rol ecológico dentro del ecosistema dulceacuícola, debido a que son organismos detritívoros y su principal fuente de alimento es la materia orgánica presente (Mojica *et al.*, 2014). No obstante, su hábitat natural se ha visto seriamente afectado por diferentes procesos de tipo antropogénico. Dentro de estas afectaciones se encuentra, la fragmentación del hábitat (Fontalvo *et al.*, 2018), deterioro de la calidad del agua (Agostinho *et al.*, 2008; Martínez-Silva, 2015), entre otros, que probablemente han generado la reducción de las poblaciones de esta especie en el río de aproximadamente el 90% (SEPEC, 2017).

Por lo anterior, la implementación de estrategias tales como los repoblamientos pesqueros, resultan ser una alternativa útil para mitigar la pérdida de la biomasa de esta especie. Sin embargo, se ha demostrado que los repoblamientos pesqueros mal direccionados llevados a cabo dentro de los centros piscícolas, contribuyen a la homogenización de la variabilidad genética presente dentro de las poblaciones silvestres del Bocachico (Guevara, 2015). Lo que hace que sea necesario la implementación de herramientas moleculares tales como los microsatélites, que resultan ser muy útiles debido a que estos marcadores son los más apropiados para hacer estimaciones sobre la estructura y diversidad genética en las poblaciones (Eguiarte *et al.*, 2007). Estos marcadores, pueden llegar a ser tan específicos que pueden diferenciar entre individuos pertenecientes a una misma población, mediante la detección de patrones de polimorfismo genético.

En este sentido, se hace necesario caracterizar molecularmente, mediante el uso de marcadores microsatélites, los reproductores de Bocachico que son utilizados en los programas de repoblamiento en los centros piscícolas más importantes de Colombia.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Caracterizar genéticamente los lotes de reproductores de Bocachico *Prochilodus magdalenae* (PISCES: PROCHILODONTIDAE) usados en programas de repoblamiento en los principales centros piscícolas de Colombia.

6.2. Objetivos específicos

- Evaluar la diversidad genética de *P. magdalenae* en siete centros piscícolas distribuidos en los ríos Cauca, Magdalena, San Jorge y Sinú.
- Determinar la estructura genética presente en *P. magdalenae* en las siete estaciones piscícolas distribuidas en los ríos Cauca, Magdalena, San Jorge y Sinú.

7. METODOLOGÍA

7.1. Fase de campo

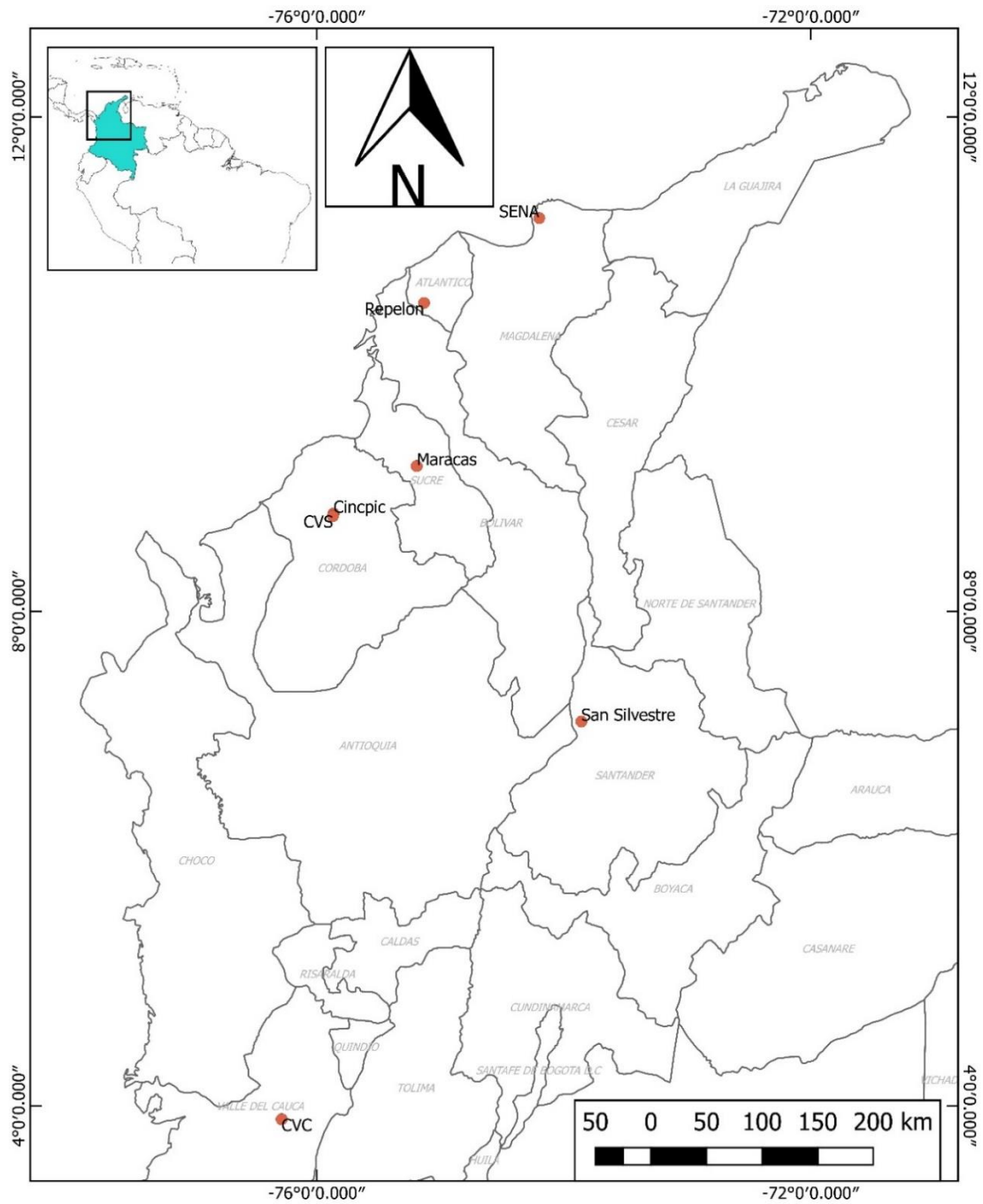


Figura 2. Localización de cada uno de los centros piscícolas del presente estudio.

El estudio se desarrolló durante el año 2010 y 2013 en siete centros piscícolas provenientes de los ríos Cauca, Magdalena, San Jorge y Sinú en Colombia (Figura 2). Los ejemplares fueron suministrados por cada uno de los centros piscícolas que mantienen individuos de Bocachico. De esta manera, se recolectaron en total 1044 individuos distribuidos en cada centro piscícola así; Estación Piscícola de Maracas 43, Centro Agroindustrial (Sena) 380, Estación Piscícola de Repelón 447, Estación Piscícola de San Silvestre 24, Estación Piscícola de la Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca (CVC) 39, Estación Piscícola de la Corporación Autónoma Regional de los Valle del Sinú y del San Jorge (CVS) 54 y Centro de Investigación Piscícola (Cinpic) 57. En cada uno de estos se tomaron muestras de la aleta caudal y se fijaron en etanol al 96%.

El presente trabajo se pudo desarrollar en marco de los proyectos “Programa de genética de conservación para el Bocachico en la cuenca media y baja del río Magdalena” (convenio número 137-09 Ecopetrol-Universidad del Magdalena) y “Evaluación de la ecología molecular de los Bocachicos (*Prochilodus spp.*) Asociado a los ríos que drenan al caribe colombiano” (con código de Colciencias 1117-489-25459).

7.2. Fase de laboratorio

De los ejemplares recolectados fue extraído el ADN genómico de la aleta usando el kit MasterPure™ (Epicentre Biotechnologies®). Se comprobó la presencia de ADN mediante el uso de un gel de agarosa al 0,8 % y las muestras fueron teñidas con GelRed, teniendo en cuenta la corrida a 80 voltios durante 30 minutos. Siete *loci* de microsatélites fueron utilizados para analizar los datos (Tabla 1). Estos fueron descritos previamente para la especie *Prochilodus lineatus* (Valencienes, 1837) mediante amplificación cruzada en *P. magdalenae* (Rueda *et al.*, 2011). El proceso de amplificación se realizó siguiendo la metodología de Rueda *et al.*, (2011) y Orozco & Narváez (2014). El volumen final utilizado para la reacción fue de 10 µl, el cual contenía 0,25 U de *Taq* polimerasa, 0,2 µM de cada cebador, 200 µM de dNTPs, 2 mM de MgCl₂, 1 X de reacción buffer y 100 ng de ADN. Los ciclos utilizados para las condiciones para la PCR fueron las siguientes: 5 minutos a 95 °C, 30 ciclos de 30 s a 94 °C, 30 s para la temperatura de alineamiento (Tabla 1), 30 s a 72 °C y una temperatura de extensión final de 72 °C por 10 minutos. Se utilizó el termociclador con gradiente de temperatura ESCO-SWIFT MaxPro para llevar a cabo las reacciones.

Se utilizó el equipo de electroforesis capilar QIAxcel Advanced (QIAGEN) con el kit de alta resolución (*High Resolution Kit* QIAGEN) y la escalera de peso molecular con una concentración determinada (*DNA Size Marker 50-800 bp v2.0* QIAGEN) para determinar el tamaño de cada producto de la amplificación. Estos tamaños fueron determinados mediante el uso del programa ScreenGel QIaxcel v1.0 QIAGEN, que a su vez permitieron cuantificar el peso de cada alelo y de esta manera obtener el genotipo de cada individuo.

7.3. Análisis de datos

Con base en la matriz de datos con los genotipos de los individuos, se realizó la verificación de los tamaños de los alelos usando el programa MSTOOLS (Park, 2001). Este mismo fue utilizado para obtener los archivos de entrada utilizados en los análisis posteriores. el programa MICRO-CHECKER (Van Oosterhout *et al.*, 2004) fue utilizado para detectar la presencia de posibles errores en la genotipificación ya sea por pérdida de alelos debido a la mala calidad del ADN o errores técnicos. El remuestreo de alelos fue realizado en cada locus mediante el uso de simulaciones *bootstrap*, que permitió la creación de intervalos de confianza entre la frecuencia esperada de homocigotos y heterocigotos para los alelos detectados.

Tabla 1. Descripción los microsatélites utilizados. Motivo de repetición, Temperatura °C, N_A.; Número de alelos, Tamaño en pares de bases. Tomado y modificado de Rueda *et al.*, (2011).

Locus	Motivo de repetición	T (°C)	N _A	Tamaño en pares de bases	Secuencia del primer
PL3	(CA) _n	50	6	185-203	F: 5'-TCTGAGCTGTGAGGAATGGA-3' R: 5'-AGAGCGCTCAAGCACAAGAT-3'
PL14	(CA) _n	61	11	104-134	F: 5'-TGCCCAACACTGAACTGAG-3' R: 5'CTCATCAACCTGCCTGGAAT-3'
PL23	(CA) _n	59	3	244-252	F: 5'-TTGGCTACTTCCCCAACAC-3' R: 5'-GGGGAAGTATTTGACGATGC-3'
PL28	(CA) _n	59	3	239-249	F: 5'-GAAGCTTGGGCTCTTGACAT-3' R: 5'-CGTTTGCCTCTAGCCTTTTG-3'
PL34	(CA) _n	56	10	178-212	F: 5'-GAGCGGATTCTCCACATGAT-3' R: 5'-TAATGTGCTCCCTCCCACAG-3'
PL64	(CA) _n	62	13	158-180	F: 5'-AGAGCAACACAGGGAGGAGT-3' R: 5'-ACGCTCTGCTCAGCCATACT-3'
PL119	(CA) _n	58	12	161-207	F: 5'-GAAAAAGGCTAGGGGACTGG-3' R: 5'-GAGGAAAATTGCCTTTTGTAGG-3'

Se determinó la diversidad genética de cada centro piscícola mediante el análisis de las métricas Heterocigosidad observada (H_o), Heterocigosidad esperada (H_e) y alelos por locus (N_a) con el programa GenAlex 6.5 (Peakall & Smouse, 2006). El programa FSTAT (Goudet, 1995), fue utilizado para calcular el coeficiente de endogamia (F_{is}) en los siete *loci*. Se utilizó la prueba exacta de Fisher para calcular el equilibrio de *Hardy-Weinberg* (en adelante H-W) (Guo & Thompson, 1992) cuya hipótesis nula se basa en la unión aleatoria de gametos. Las permutaciones de la Cadena de Markov Monte Carlo (MCMC) se utilizaron para calcular esta prueba con 1000 batches/ 1000 iteraciones, usando el programa GENEPOP (Raymond & Rousset, 1995).

El desequilibrio de ligamiento se comprobó usando pruebas exactas de MCMC con 10000 batches/ 1000 iteraciones (Guo & Thompson, 1992) usando el programa GENEPOP. La distribución de la varianza molecular entre las estaciones piscícolas, para verificar la existencia de poblaciones diferenciadas genéticamente de *P. magdalanae* se realizó mediante un AMOVA con el programa ARLEQUÍN 3.1 (Schneider *et al.*, 2000).

Con esta prueba se analizó la distribución de la variabilidad genética considerando el agrupamiento de cada localidad con el río al que pertenece. En este sentido, los agrupamientos se realizaron de la siguiente manera; Las estaciones Sena, Repelón y San Silvestre pertenecientes al río Magdalena como el primer grupo, las estaciones Cinpic y CVS pertenecientes al río Sinú como el segundo grupo y las estaciones CVC del río Cauca y Maracas del río San Jorge como un tercer y cuarto grupo respectivamente.

El programa ARLEQUIN 3.1 se usó también para estimar los valores de F_{st} por parejas (Weir & Cockerham, 1984). Se consideró el uso de este índice ya que permite estimar las distancias genéticas existentes entre poblaciones de peces (O'connell & Wright, 1997). Adicionalmente, se usó el estadístico Φ_{PT} como una prueba análoga, teniendo en cuenta que es probable que los *loci* se encuentren por fuera de los supuestos de H-W.

Se utilizó el programa STRUCTURE 2.3.3 (Hubisz *et al.*, 2009), en el agrupamiento bayesiano que permite identificar las similitudes genéticas que puede existir entre los grupos bajo estudio. De esta manera, se puede determinar el nivel de estructura genética ente los individuos, indistintamente del centro piscícola de origen. El número de subpoblaciones K , se estimó considerando 20 corridas independientes de $K = 1 - 10$, que fueron llevadas a cabo con 100000 repeticiones de MCMC y 200000 periodos de *burn-in*, teniendo en cuenta la información LOC-PRIOR y frecuencias de alelos correlacionadas.

Con base en el patrón migratorio de *P. magdalenae*, que puede incluir flujo genético entre los centros piscícolas, se consideró el modelo de mezcla (Admixture model), el cual está basado en que cada individuo tiene la misma probabilidad de herencia de su ancestro. Finalmente, para establecer el número de poblaciones (K) presentes, se siguió el método propuesto por Evanno *et al.*, (2005). Este valor fue calculado mediante el uso del programa STRUCTURE HARVESTER 0.56.3 (Earl & von Holdt, 2012).

8. RESULTADOS

8.1. Diversidad genética

Todos los *loci* evaluados resultaron 100 % polimórficos en los diferentes centros piscícolas estudiados para *P. magdalenae*. Un total de 123 alelos se encontraron en los sitios de estudio. El centro con menor número promedio de alelos por locus fue Maracas (9,286 ver tabla 2), mientras que la estación Sena fue la que presentó mayor promedio de alelos por locus (18,429 ver tabla 2).

Tabla 2. Tabla general de resultados. Tamaño de la muestra (N), Número de alelos (Na), Diversidad observada (Ho), Diversidad esperada (He), Índice de fijación (F), P-valor (P).

Centro piscícola	Est.	<i>Loci</i>							Media
		PL28	PL14	PL23	PL34	PL64	PL119	PL3	
Maracas N=43	Na	7	11	9	8	7	14	9	9,286
	Ho	0,186	0,093	0,186	0,023	0	0,023	0,232	0,106
	He	0,769	0,859	0,809	0,783	0,775	0,927	0,754	0,811
	F	0,755	0,880	0,767	0,954	1,000	0,973	0,688	0,755
	P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Sena N=380	Na	21	20	16	15	14	26	17	18,429
	Ho	0,007	0,105	0,252	0,178	0,102	0,326	0,176	0,164
	He	0,9	0,9	0,9	0,892	0,83	0,93	0,912	0,895
	F	0,991	0,861	0,686	0,757	0,836	0,590	0,783	0,991
	P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Repelón N=447	Na	13	22	15	13	14	24	13	16,286
	Ho	0,024	0,223	0,333	0,064	0,335	0,378	0,19	0,221
	He	0,815	0,934	0,9	0,789	0,857	0,933	0,832	0,866
	F	0,966	0,736	0,604	0,912	0,579	0,569	0,744	0,966
	P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
San Silvestre N=24	Na	7	14	11	10	11	18	14	12,143
	Ho	0,041	0,208	0,25	0,041	0,208	0,333	0,25	0,190
	He	0,82	0,854	0,868	0,86	0,882	0,848	0,914	0,864
	F	0,941	0,646	0,595	0,933	0,681	0,424	0,662	0,941

	P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
CVC N=39	Na	12	11	10	6	10	22	14	12,143
	Ho	0,025	0,179	0,282	0,051	0,384	0,102	0,358	0,197
	He	0,866	0,812	0,87	0,724	0,814	0,945	0,915	0,849
	F	0,969	0,776	0,672	0,928	0,522	0,890	0,590	0,969
	P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
CVS N=54	Na	7	16	12	8	9	16	6	10,571
	Ho	0,074	0,111	0,37	0,259	0,259	0,296	0,222	0,227
	He	0,7	0,904	0,842	0,765	0,713	0,921	0,776	0,803
	F	0,893	0,859	0,545	0,658	0,620	0,668	0,711	0,893
	P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Cinpic N=57	Na	11	16	12	11	12	17	10	12,714
	Ho	0,035	0,105	0,228	0,192	0,192	0,298	0,14	0,170
	He	0,818	0,907	0,883	0,853	0,808	0,904	0,874	0,864
	F	0,956	0,875	0,679	0,772	0,753	0,660	0,823	0,956
	P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

En general, una baja heterocigosidad observada se evidenció para los siete centros piscícolas, siendo Maracas la estación con más baja diversidad genética observada (106 ver tabla 1) mientras que la estación CVS fue que presentó mayor diversidad genética observada (0,227 ver tabla 2). Contrario a esto, la heterocigosidad esperada obtuvo altos valores en términos generales, siendo la estación Sena la que obtuvo mayor valor de diversidad genética esperada (0,895 ver tabla 2), mientras que la estación CVS fue la de menor valor (0,803 ver tabla 2).

No se presentó desequilibrio de ligamiento en ningún *loci* evaluado. No obstante, si se presentaron desviaciones del equilibrio de H-W relacionado principalmente por un déficit de heterocigotos, en todas las estaciones piscícolas. Se encontraron alelos nulos en todos los *loci* analizados en cada una de las localidades de estudio.

8.2. Estructura genética

El resultado global de la prueba *Fst* mostró un valor general de 0,03 lo que indica poca diferenciación genética (Wright, 1978) entre los centros piscícolas. Este análisis sugiere que entre los diferentes centros piscícolas no existen patrones claros en cuanto a la distribución desigual de la variabilidad genética en el Bocachico. Sin embargo, al analizar los valores de *Fst* pareados (Entre cada centro piscícola), se pueden observar fluctuaciones que van desde aquellos que presentan muy poca diferenciación genética como e.g Cinpic y Repelón con valores de 0,021 (ver tabla 3), hasta localidades con moderada diferenciación genética como por ejemplo las estaciones CVS y CVC con 0,097 (ver tabla 3).

Debido a que todas las localidades de estudio se encontraron por fuera de los postulados de EH-W, se realizó la prueba no paramétrica de diferenciación *PhiPT*, cuyos resultados presentaron valores similares a los de *Fst*. En este sentido, las estaciones con baja diferenciación fueron San Silvestre y Sena con 0,014 (ver tabla 3) y las estaciones con moderada diferenciación fueron CVC y CVS con 0,103 (ver tabla 3). Todos los resultados obtenidos tanto para *Fst* como para *PhiPT* fueron estadísticamente significativos.

Tabla 3. Valores de *Fst* por debajo de la diagonal y valores de *PhiPT* por encima de la diagonal.

	Maracas	Sena	Repelón	San Silvestre	CVC	CVS	Cinpic
Maracas	0	0,072	0,059	0,038	0,075	0,075	0,058
Sena	0,058	0	0,035	0,014	0,046	0,071	0,038
Repelón	0,059	0,03	0	0,012	0,056	0,078	0,022
San Silvestre	0,06	0,025	0,04	0	0,042	0,048	0,016
CVC	0,091	0,052	0,05	0,084	0	0,103	0,044
CVS	0,083	0,068	0,068	0,082	0,097	0	0,081
Cinpic	0,069	0,039	0,021	0,052	0,048	0,076	0

Tabla 4. Análisis Molecular de Varianza AMOVA realizado para las estaciones piscícolas teniendo en cuenta el agrupamiento por origen de individuos en las estaciones.

Agrupamiento	% entre localidades	% entre individuos dentro de las localidades	% entre individuos	P-valor	<i>Fst</i>
Centros piscícolas por cuenca hidrográfica	3,18	75,89	20,92	<0,0001	0,03

El resultado obtenido del AMOVA cuando se agruparon las estaciones piscícolas por cuenca de origen de los reproductores, mostró que el mayor porcentaje de variabilidad se encuentra localizado entre individuos dentro de las poblaciones y no entre los grupos, lo que sugiere una falta de estructuración genética entre los grupos conformados (ver tabla 4).

Por otro lado, los resultados obtenidos del agrupamiento bayesiano sugieren la coexistencia de tres poblaciones ($K=3$) entre los centros piscícolas estudiados. De este modo, el análisis sugirió que las tres poblaciones o *cluster* están distribuidos a lo largo de las estaciones piscícolas, con individuos como representantes de cada población. Asimismo, se logró identificar la homogeneidad genética de algunas estaciones piscícolas con cada *cluster* a excepción de la estación del Sena, la cual está compuesta por las tres poblaciones (Figura 3).

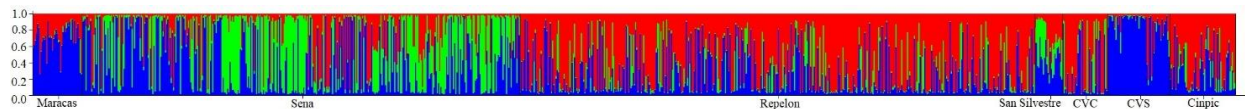


Figura 3. Estructura genética poblacional estimada para *P. magdalенаe* en los centros piscícolas.

9. DISCUSIÓN

9.1. Diversidad genética

El éxito de los programas de repoblamiento de peces en Colombia, desde la perspectiva genética y molecular, depende en gran medida de la variabilidad genética presente en las poblaciones analizadas. En este sentido, el uso de marcadores moleculares microsátélites, permitieron detectar con alta eficiencia los alelos presentes en cada una de las estaciones piscícolas.

Sin embargo, la baja variabilidad encontrada (H_o) y los valores en el índice de fijación (F) dentro de las estaciones piscícolas estudiadas, pueden ser resultado de factores históricos que han afectado a las poblaciones de Bocachico en medio natural. Factores como la fragmentación de hábitat, sobrepesca, entre otros (Mojica *et al.*, 2014; SEPEC, 2016), previos al establecimiento de los sistemas de reproductores en cada estación piscícola posiblemente relacionado con un efecto fundador, el cual consiste en la pérdida de variación genética cuando se conforma una población a partir de un bajo número de individuos (Caujapé-Castells, 2006). Autores como Orozco y Narváez 2014; Fontalvo *et al.*, 2018, han logrado evidenciar una baja variabilidad genética asociadas a pérdida de alelos por cuellos de botella y fragmentación en las poblaciones de Bocachico en la cuenca del río Magdalena.

Adicionalmente, Torregroza-Espinosa *et al.*, (2015) coinciden con la baja variabilidad genética individual encontrada en los reproductores de Bocachico en la estación piscícola del Sena. Sin embargo, este autor evidencia un aumento de esta variabilidad en las progenies de Bocachico posterior a un buen manejo reproductivo de esta especie. Lo anterior que maximiza la necesidad de considerar los aspectos genéticos y reproductivos, dentro del direccionamiento de los programas de repoblamiento, ya que un mal manejo de estos contribuye la homogenización del acervo genético de *P. magdalenae*.

Sin embargo, el déficit de heterocigotos también puede ser atribuido a la presencia de alelos nulos, lo cual fue corroborado por medio del programa Microchecker. Tal fue el caso reportado para *Prochilodus argenteus*, el cual el déficit heterocigoto se atribuyó una combinación de factores entre ellos la presencia de alelos nulos (Hatanaka *et al.*, 2006).

Sumado a lo anterior, el inadecuado manejo reproductivo puede ocasionar una acelerada disminución de la variación genética en una población en pocas generaciones (Wasko *et*

al., 2004; Porta *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2007). La endogamia, la utilización de un pequeño número de reproductores y la selección no intencional durante la reproducción son los principales factores del manejo reproductivo, que promueven la disminución de la variabilidad genética. Otro factor a considerar es que muchas veces el remplazo de los reproductores se realiza sin criterios científicos y los animales son seleccionados como producto de eventos reproductivos sucesivos dentro de la misma estación piscícola (Chaparro N, *Com. Pers*). Esto sugiere que las poblaciones de reproductores en las estaciones piscícolas están en proceso de pérdida de alelos por disminución de la variabilidad genética (Bengtsson *et al.*, 1995). Lo anterior implica un cambio en la composición genética de la población mantenida en cautividad. A pesar de lo anterior, la variabilidad esperada (H_e) muestra altos valores que reflejan el potencial que tiene el recurso genético de esta especie y que resulta importante en la selección de reproductores para los programas de repoblamiento (Lopera-Barrero *et al.*, 2015).

Estos altos valores de heterocigosidad esperada, se ven respaldados por la riqueza alélica detectada en los centros piscícolas. Un máximo de 24 alelos por *loci* fueron encontrados, con un promedio general de 13,082, que resulta ser un poco más alto que los documentados en otros trabajos sobre Bocachico (Santacruz, 2003; Orozco y Narváez, 2014; Fontalvo *et al.*, 2018) e inclusive en otras especies del mismo género tales como *Prochilodus costatus* (Carvalho-Costa *et al.*, 2008; Silva, 2011) y *Prochilodus argenteus* (Hatanaka *et al.*, 2006; Galzarani, 2007). Lo anterior contradice a lo propuesto por Barbosa *et al.*, (2008), ya que al realizar la amplificación de *loci* heterólogos en *Prochilodus costatus* y *Prochilodus lineatus*, evidenció la presencia de *loci* monomórficos conllevando a la identificación de un bajo número de alelos en las poblaciones de estas especies. Sin embargo, es importante mencionar que el tamaño de la muestra tiene un papel importante en estos resultados. Esto evidencia que el tamaño con la cual se fundaron las poblaciones en los centros piscícolas fueron distintas y están directamente relacionadas con el polimorfismo de los *loci*, ya que hay estudios que documentan cómo el tamaño de la población de reproductores juega un papel importante en la riqueza alélica (Aho *et al.*, 2006).

Por otro lado, el análisis del EHW en los centros piscícolas muestran una desviación por un déficit de heterocigotos. Este comportamiento fue corroborado por los valores positivos del *F_{is}*. Otros estudios han reportado comportamientos similares en el cual se considera que el déficit está asociado a una reducción drástica del tamaño poblacional, efecto fundador y origen de los reproductores (Narváez, 2006).

El contexto anterior es alarmante debido a que los reproductores de las estaciones piscícolas presentan un estado genético muy pobre y esto puede ser un espejo de lo que pueda estar sucediendo en medio natural, debido a los repetidos programas de repoblación. Sin embargo, los resultados también sugieren que las poblaciones de Bocachico mantenidas en cautiverio, tiene un buen potencial en cuanto a su recurso genético, que eventualmente permitiría recuperar la diversidad dentro de las poblaciones mantenidas en cautiverio y posteriormente las que se encuentran habitando en el medio silvestre. En este sentido, el buen manejo de los programas de repoblamiento, puede contribuir a la recuperación y redistribución de alelos que aumenten la capacidad de adaptación del Bocachico.

9.2. Estructura genética

A pesar de que *Prochilodus magdalenae* es considerado un pez migratorio de larga distancia (Jiménez-Segura *et al.*, 2010; Aguirre *et al.*, 2013), con el uso de marcadores microsatélites en medio natural se pudo comprobar que existe una moderada a fuerte diferenciación genética entre las poblaciones silvestres de esta especie. Es así como Orozco y Narváez, (2014) a través de aproximaciones bayesianas, propone la existencia de tres poblaciones de Bocachico que coexiste y se distribuyen a lo largo de la cuenca del río Magdalena. Adicionalmente, Fontalvo *et al.*, (2018), propone que la existencia de barreras que limitan la dispersión de esta especie pueden fungir como un obstáculo para su distribución ocasionando una fuerte diferenciación. Este mismo autor encuentra las tres poblaciones distribuidas a lo largo de su área de estudio.

El caso no fue diferente para las estaciones piscícolas analizadas en este estudio, ya que el agrupamiento generado por Structure utilizando aproximaciones bayesianas (Figura 1), mostró que existen tres poblaciones distribuidas entre los diferentes lotes de reproductores.

Aunque la agrupación realizada por el programa Structure no evidencia que cada estación piscícola tiene una información genética única, a pesar de que los lotes de reproductores son obtenidos de diferentes ríos, es claro que, de acuerdo a lo propuesto por Orozco y Narváez, (2014) las tres poblaciones ($k=3$) se encuentran distribuidas a lo largo de las diferentes estaciones piscícolas. Lo anterior implica que al menos un individuo recolectado de cada estación muestreada se asignó a uno de los tres grupos. Sin embargo, es importante aclarar que este comportamiento no fue evidente en las muestras recolectadas en las estaciones piscícolas del río Sinú (CVS y CINPIC), donde solo fue posible identificar

dos *cluster* poblacionales. Otro aspecto importante de resaltar, fue la homogeneidad genética del lote de reproductores del río San Jorge (Est. Maracas). La estación piscícola que se presentó más mezclada ($K=3$) fue la del Sena, en la cual los reproductores fueron obtenidos de parte baja de la Cuenca del río Magdalena. Este aspecto tiene unas implicaciones importantes, debido a esta especie, usualmente necesita migrar desde las zonas de inundación más bajas de los ríos (zona de alimentación y maduración), hacia las partes altas, donde realiza el proceso reproductivo (Jiménez-Segura *et al.*, 2010; Mojica *et al.*, 2012). Orozco y Narváez, (2014) demuestra la coexistencia de las tres poblaciones en la parte baja de la cuenca del río Magdalena (ciénagas y cauce principal del río) lo que podría explicar la conformación genética de este lote de reproductores. Es importante aclarar, que entre algunos lotes de reproductores existe una diferenciación geográfica considerable (e.g CVC y SENA= Aprox 1000 km), siendo los animales capturados directamente en el río Cauca y del Magdalena respectivamente. Sin embargo, a pesar de la separación entre ambas piscícolas es posible que entre las poblaciones existiese un flujo génico en el ambiente natural previo a la conformación de los lotes de reproductores, lo que explicaría su similitud genética, circunstancia confirmada con el resultado de F_{ST} (0.046) que mostró una baja diferenciación genética.

Adicionalmente, estos procesos de subestructuración en poblaciones silvestres de Bocachico, se han soportado bajo la hipótesis de ondas reproductivas (Jorgensen *et al.*, 2005; Orozco y Narváez, 2014) donde los grupos diferenciados genéticamente coexisten en un mismo hábitat y tienden a llevar a cabo el proceso de desove en las mismas áreas, pero en tiempos diferentes contribuyendo así a la estructuración. En este sentido, es importante mencionar que las estaciones piscícolas que busquen recuperar a las poblaciones de Bocachico en medio natural a través de los repoblamientos, deben garantizar la presencia en su lote de reproductores representantes de cada una de las poblaciones genéticas encontradas en cada cuenca. Este aspecto es importante debido a que se puede inducir a la pérdida de genes importantes en la adaptación al ambiente que limiten la capacidad de supervivencia de los organismos liberados (Sønstebø *et al.*, (2007). Lo anterior es un indicativo que se debe respetar la integridad genética de cada cuenca, evitando eventos de reintroducción de organismos entre cuencas diferentes.

De acuerdo a lo anterior, se sugiere que el manejo reproductivo y genético de la población de Bocachico utilizada en programas de repoblamiento no puede ser realizado de manera

homogénea. Lo anterior indica que cada estación piscícola debe establecer lotes de reproductores por separado en función de su información genética para que exista una congruencia entre los organismos liberados y aquellos que habitan en medio natural. Estudios realizados en el género, han mostrado el efecto que puede tener las malas praxis en cuanto al manejo reproductivo sobre el lote de reproductores. Tal es el caso demostrado por Lopera-Barrero *et al.*, (2007) en la especie *Prochilodus lineatus*, utilizados en programas de repoblamiento donde se reporta una baja variabilidad genética, producto de la utilización de estrategias reproductivas incorrectas. Por otro lado, Povh (2007) compara poblaciones en cautiverio y de medio natural en la especie *Piaractus mesopotamicus*, encontrando una menor diversidad genética en el lote de reproductores debido a un deficiente manejo reproductivo de los animales.

10. CONCLUSIONES

Los diferentes programas de conservación, son estrategias enfocadas a la recuperación y/o protección de recursos fuertemente impactados que se encuentran bajo algún grado de amenaza, por el cual se sobrentiendo que sus poblaciones presentan algún tipo de riesgo para su continuidad en el ambiente natural. Sin embargo, estas estrategias muchas veces son implementadas sin ningún criterio técnico científico que soporte su uso. Tal es el caso de lo repoblamiento realizados en especies nativas. De acuerdo a esto, uno de los primeros pasos para la aplicabilidad de esta estrategia en Colombia es 1) la realización de una caracterización genética de los lotes de reproductores y su afinidad genética con las poblaciones en medio natural sujetas al programa de repoblación. 2) Evitar el uso de reproductores de diferentes cuencas que pueden erosionar el acervo genético de la población receptora, con la posible eliminación de información genética importante en la adaptabilidad de las poblaciones. 3) Implementar lotes de reproductores por separado que respeten la integridad genética de las poblaciones halladas en medio natural. 4) Identificar genéticamente a cada individuo (uso de microchips) dentro del lote de reproductores para darle un manejo reproductivo adecuado y dirigido que tenga como finalidad incrementar los niveles de variabilidad genética de la población de Bocachico dentro de cada sistema de reproductores. Este último aspecto es importante de considerar, debido a que se debe tener en cuenta que una disminución en la variabilidad genética puede conllevar a que un programa de repoblamiento sea ineficiente, con una baja sobrevivencia de los peces en el ambiente natural y con un impacto negativo fuerte en la población nativa. Sin embargo, es importante recordar la importancia de la conservación de todo el sistema ecológico donde habita la especie a recuperar, para que exista un verdadero éxito en el programa de repoblación y no se produzcan efectos negativos en la ictiofauna del sistema. De esta forma, las medidas conjuntas de conservación de la diversidad genética y del ecosistema acuático son necesarias para que estos programas tengan éxito.

11. RECOMENDACIONES

- Realizar la renovación de los reproductores con peces provenientes del medio natural o de otras estaciones, pero con previa caracterización genética que indique que se va introducir nueva información a la población de reproductores existente en las estaciones.
- Al establecer un nuevo lote de reproductores de Bocachico u otras especies con fines de repoblamiento, se debe utilizar la mayor cantidad de peces posibles.
- El lote de reproductores debe ser caracterizado genéticamente con un marcador codominante como los microsatélites y determinársele su compatibilidad genética con la futura población natural receptora.
- Replicar este estudio en otras especies que se encuentren en la misma situación del Bocachico, para así recuperar la diversidad de especies que contaba en décadas anteriores las diferentes cuencas hidrográficas de Colombia.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Abdul-Muneer, P.M. 2014 Application of microsatellite markers in conservation genetics and fisheries Management: recent advances in population structure analysis and conservation strategies. *Genetics Research International*, 1: p. 1-14.
- Agostinho, A. A., F. M. Pelicice and L. C. Gomes. 2008. Dams and the fish fauna of the neotropical region: Impacts and management related to diversity and fisheries. *Brazilian Journal of Biology* 68 (4): 1119-1132.
- Agostinho, A.A.; Thomaz, S.M. & Gomes, L.C. 2005. Conservation of the Biodiversity of Brazil's Inland Waters. *Conservation. Biol.*, 19 (3): 646-652.
- Aguirre-Pabón, J; Narváez Barandica, J & Castro García. L. 2013. Mitochondrial DNA variation of the bocachico *Prochilodus magdalenae* (Characiformes, Prochilodontidae) in the Magdalena River Basin, Colombia. *Aquatic Conservation: Marine Freshwater Ecosystem*. v. 23 (4): p 594-605.
- Aho, T.; Rönn, J.; Piironen, J. et al. 2006. Impacts of effective population size on genetic diversity in hatchery reared Brown trout (*Salmo trutta* L.) populations. *Aquaculture*, v.253: p. 244-248.
- Alam M.S. & M.S. Islam, 2005. Population genetic structure of *Catlacatla*(Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. *Aquaculture* 246:151-160.
- Aung, O.; Nguyen, T. T. T.; Poompuang, S & Kamonrat, W. 2010. Microsatellite DNA markers revealed genetic population structure among captive stocks and wild populations of mrigal, *Cirrhinus cirrhosus* in Myanmar. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 299(1-4): p. 37- 43.
- Arrieta, J. 2015. 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. Trabajo de Grado. Universidad del Magdalena, Facultad de Ciencias Básicas. Santa Marta, p. 71.
- Atencio, V.; Kerguelén, E.; Wadnipar, L. & Narváez, A. 2003. Manejo de la primera alimentación del bocachico (*Prochilodus magdalenae*). *MVZ-Córdoba* 8(1): 254-260.

- Atencio, V. 2001. Producción de alevinos de especies nativas. MVZ-Córdoba 6 (1): p. 9-14.
- Balding, D.J.; Bishop, M. y Cannings, C. (Eds.). 2007. Handbook of Statistical Genetics. Third Edition. John Wiley & Sons, Ltd. England. 1392ng p.
- Barbosa, A, F. Galzerani, T. Corrêa, P.M. Galetti & T. Hatanaka, 2008. Description of novel microsatellite loci in the Neotropical fish *Prochilodus argenteus* and cross-amplification in *P. costatus* and *P. lineatus*. *Genetics and Molecular Biology* 31(1): p. 357-360.
- Bell, J.D.; Leber, K.M.; Blankenship, H.L.; Loneragan, N.R & Masuda, R. 2008. A New Era for Restocking, Stock Enhancement and Sea Ranching of Coastal Fisheries Resources. *reviews in fisheries science* vol. 16: 1-3.
- Bengtsson, B.O.; Weibull, P. & Ghatnekar, L. 1995. The loss of alleles by sampling: a study of the common outbreeding grass *Festuca ovina* over three geographic scales. *Hereditas*, v.122: p.221-238.
- Campos, W. 2009. Análise comparativa da variação genética entre os estoques cultivado e natural de *Prochilodus argenteus*: implicacoes para o repovoamento de ríos. Tesis de Maestria. Sao Carlos. UFSCar.
- Castro, R.M.C & Vari, R.P. 2004. Detritives of the South American fish family Prochilodontidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes): a phylogenetic and revisionary study. Washington: Smithsonian. 187 p
- Caujapé-Castells, J. 2006. Brújula para botánicos desorientados en la genética de poblaciones. Las Palmas de Gran Canaria: Exegen Ediciones. p. 133.
- Carvalho-Costa, L. F.; Hatanaka, T. & Galetti Júnior, P. M. 2008. Evidence of lack of population substructuring in the Brazilian freshwater fish *Prochilodus costatus*. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 31(1): p. 377-380.
- CCI. Pesca y acuicultura: Colombia 2006. Corporación Colombia Internacional- INCODER, Bogotá. 2007. p 56.
- Cortés, G. A. 2003. Guía para el manejo, cría y conservación del Bocachico *Prochilodus magdalenae* Steindachner. Convenio Andrés Bello. Bogotá D. C., p. 42.
- Earl, D. & B. vonHoldt. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics* 4 (2): p. 359-361.

- Eguiarte, L. E., Souza, V., y Aguirre, X. 2007. Ecología Molecular. (pág. 165). Ciudad de México: Coordinación Editorial, Diseño de Interiores.
- Evanno, G., S. Regnaut & J. Goudet. 2005. Detecting the number of cluster of individuals using the software Structure: A simulation study. *Molecular Ecology* v. 14: p. 2611-2620.
- Fontalvo, P., Orozco, G. & Narváez, J. 2018. Diversidad y estructura genética del *Prochilodus magdalenae* (Pisces: Prochilodontidae) aguas arriba y abajo de la represa Betania, Colombia. *Intropica* 13(2): p. 1–14.
- Galzerani F. 2007. Análise da variabilidade genética de *Prochilodus argenteus* (Pisces, Prochilodontidae) do rio São Francisco, região de Três Marias, através de marcadores microsatélites. Monography, Dept. Genetics and Evolution, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brazil.
- Guevara, L. 2015. Evaluacion 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. Trabajo de Grado. Universidad Francisco de Paula Santander, Facultad de Ciencias Agrarias del Ambiente, Zootecnia. Ocaña, 69 pp.
- Goudet, J. 1995. FSTAT: A program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3).
- Guo, S. W. & E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* v. 48: p. 361-372.
- Hartl, D.L. y Clark, A.G. 1997. Principles of population genetics. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- Hatanaka, T.; Henrique-Silva, F.& Galetti Júnior, P. M. 2006. Population substructuring in a migratory freshwater fish *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the São Francisco River. *Genetica*, Dordrecht, v. 126(1-2: p. 153-159.
- Hubisz, M. J., D. Falush, M. Stephens & J. K. Pritchard. 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resource* v. 9: p. 1322-1332.
- IDEAM, Estudio Nacional del Agua 2014. Bogotá, D. C., 2015. 496 pp.

- Jiménez-Segura, L. F., J. Palacio & R. Leite. 2010. River flooding and reproduction of migratory fish species in the Magdalena river basin, Colombia. *Ecology of Freshwater Fish* v. 19: p. 178-186.
- Jiménez-Segura L., 2007. Ictioplancton y períodos reproductivos de los peces del río Magdalena medio. [Tesis de doctorado] [Medellín, (Colombia)]: Instituto de Biología, Universidad de Antioquia, p. 256.
- Jorgensen H, Hansen M, Bekkevold D, Ruzzante DE & Loeschcke V. 2005. Marine landscape and population genetic structure of herring (*Clupea harengus* L.) in the Baltic Sea. *Mol. Ecol.*, v. 14: p. 3219- 3234.
- Kang, J.H.; Noh, J.K.; Kim, J.H.; Lee, J.H.; Kim, H.C.; Kim, K.K; Kim, B.S. & Lee, W.J. 2006. Genetic relationship between broodstocks of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel) using microsatellite markers. *Aquaculture Research* 37:701-707.
- Liu, Z.J. & J.F. Cordes, 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* 238, 1-37.
- Lopera-Barrero NM, Santos SCA, Rodríguez-Rodríguez MP, Fornari DC, Zancheta C, Poveda Parra AR, et al. 2015 Genetic diversity of wild populations and broodstocks of curimba for restocking programmes in the Tietê, Grande, Pardo and Mogi-Guaçu rivers (Brazil). *Boletim do Instituto de Pesca*. v. 41(2): p. 287-304.
- Lopera-Barrero, N. M.; Ribeiro, R. P.; Povh, J. A.; Sirol, R. N. & Mangolin, C. A. 2010. Genetic evaluation of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) natural populations and from the broodstocks of a stock enhancement program using microsatellite markers. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 62(4): p. 954-963.
- Lopera-Barrero, N.M.; Ribeiro, R.P.; Povh, J.A.; Gomes, P.C.; Vargas, L. y Nogueira de Oliveira, S. 2008. Caracterización genética de lotes de peces usados en programas de repoblamiento y su importancia en la conservación genética en la piscicultura. *Zootecnia Tropical*. 26(4): 515-522.
- Lopera-Barrero NM, Ribeiro RP, Jacometo CB, Oliveira SN, Streit Jr DP & Blanck DV. 2007. Análise genética de estoques de curimba (*Prochilodus lineatus*) destinados a programas de repovoamento. *Memórias 44ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia.*, Jaboticabal, Brasil. A556.

- Lopes, T.S.; Ribeiro, R.P.; Lopera Barrero, N.M.; Sirol, R.N.; Povh, J.A.; Gomes, P.C. & Vargas, L. 2008. Caracterização genética de estoques de curimba (*Prochilodus lineatus*) utilizados em programas de repovoamento, *Rev. Bras.*, p. 652-66.
- López, L. 2006. Genetic variability and population structure of dorada (*Brycon moorei sinuensis* Dahl) in the Sinú River, Córdoba, Colombia. *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 11: 1–7.
- Machordom A, García-Marín J, Sanz N, Almodóvar A & Pla C. 1999. Allozyme diversity in brown trout (*Salmo trutta*) from Central Spain: Genetic consequences of restocking. *Freshwater Biology* v. 41: p. 707-717.
- Maldonado-Ocampo, J. A., A. Ortega-Lara, J. S. Usma, G. Galvis, F. A. Villanavarró, L. Vásquez, S. Prada-Pedrerós & C. Ardila. 2005. Peces de los Andes de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos, Alexander Von Humboldt. Bogotá D.C., 346 pp.
- Martínez-Silva, P. 2015. Variación espacio-temporal de microalgas acuáticas del embalse de Betania, Huila y su relación con la calidad del agua. *Intropica* 10: 11-19.
- Martínez H, Narváez J, Rivera R & Solano O. 2006. Evaluación de la selectividad del trasmallo en la pesquería artesanal de la zona deltaica estuarina del río Sinú, Caribe colombiano. *Revista Intrópica*; v 3(1): p. 29-37.
- Maldonado-Ocampo, J.A.; Vari, R.P. & Usma, J.S. 2008. Checklist of the Freshwater Fishes of Colombia. *Biota Colombiana*.9 (2): 143 – 237
- Mojica, J. I., J. S. Usma, R. Álvarez-León & C. A. Lasso. 2012. Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, WWF Colombia y Universidad de Manizales. Bogotá, D.C., 319 pp.
- Mojica J.I., C. Castellanos, J.S. Usma & R. Álvarez (Eds). 2002. Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales - Universidad Nacional de Colombia y Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá.
- Moreira, A. A., Hilsdorf, A. W. S., Silva, J. V., & Souza, V. R. 2007. Genetic variability of two Nile tilapia strains by microsatellites markers. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42, 521-526.

- 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.
- O'connell M. & Wright, J. 1997. Microsatellite DNA in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. v. 7(1): p. 331–363.
- Olaya-Nieto, C.W.; Segura-Guevara, F.F.; Brú-Cordero, S.B. & Blanco-Viellar, H.M. 2003. Biología reproductiva del bocachico (*Prochilodus magdalenae* Steindachner 1878) en el río Sinú (Colombia). *Revista II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura CIVA 727- 734*.
- Orozco, G. & J. C. Narváez. 2014. Genetic diversity and population structure of Bocachico *Prochilodus magdalenae* (Pisces, Prochilodontidae) in the Magdalena River basin and its tributaries, Colombia. *Genetics and Molecular Biology* v. 37 (1): p. 37-45.
- Park, S.D.E., 2001. Trypanotolerance in Western African cattle and the population genetic effects of selection. Ph.D. Genetic Department, University of Dublin, Ireland.
- Peakall, R. & P. Smouse. 2006. GenAlex6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Resources* v. 6: p. 288-295.
- Petersen, R.S.; Garcia, J.E.; Mello, G.; Liedke, A.M.R.; Sincero, T.C.M. & Grisard, E.C. 2012. Análise da diversidade genética de tilápias cultivadas no estado de Santa Catarina (Brasil) utilizando marcadores microsatélites. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 38(4): p. 313-321.
- Porta, J.; Porta, J. M.; Matínez-Rodríguez, G.; Alvarez, M. C. 2006. Genetic structure and genetic relatedness of a hatchery stock of Senegal sole (*Solea senegalensis*) inferred by microsatellites. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 251(1): p. 46-55.
- Povh, J. A.; Ribeiro, R. P.; Lopera Barrero, N. M.; Jacometo, C. B.; Vargas, L.; Gomes, P. C. & Lopes, T. S. 2011. Microsatellite analysis of pacu broodstocks used in the stocking program of Paranapanema river, Brazil. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 68 (3): p. 308-313.
- Povh, J.A.; Lopera Barrero, N.M.; Ribeiro, R.P. et al. 2008. Importancia del monitoreo genético de programas de repoblamiento de peces mediante marcadores moleculares. *Ciencia e Investigación Agraria*., v. 35: p. 25-35.

- Povh, J.A.; Ribeiro, R.P.; Sirol, R.N.; Mangolin, C.A.; Gasparino, E.; Lopera-Barrero, N.M.; Gomes, P.C.; Streit, D.P.Jr. y Vargas, L. 2006. Importância do monitoramento genético pela utilização de marcadores moleculares na piscicultura.
- Povh JA. 2007. Avaliação da diversidade genética e do manejo reprodutivo do pacu, *Piaractus mesopotamicus*. Tese (Doutorado em Zootecnia), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil.
- Raymond, M. & F. Rousset. 1995. Testing Heterozygote excess and deficiency. *Genetics* v. 140: p. 1413-1419.
- Román, C., 1993. Status taxonómico del bocachico *Prochilodus magdalenae*. *Rev. Col. Ciencia*, 9:17-26, 1993.
- Rueda, E., J. Sommer, P. Scarabotti, R. Markariani & G. Ortí. 2011. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the migratory freshwater fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes: Prochilodontidae). *Conservation Genetics Resource* v. 3 (4): p. 681-684.
- Santacruz BDH. 2003. Evaluación de la variabilidad genética con marcadores microsatélites del bocachico *Prochilodus magdalenae* (Steindachner 1878) en el Río Sinú, Colombia. Thesis, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 126 p.
- Silva A. 2011. Estrutura genética populacional de *Prochilodus costatus* Valenciennes 1850 (Characiformes, Prochilodontidae) no alto São Francisco. Masters Thesis, Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, Brazil.
- Schneider, S., D. Roessli & L. Excoffier. 2000. Arlequin: A software for population genetics data analysis. v.2.000. Genetics and Biometry Laboratory, Dept. of Anthropology, University of Geneva, Switzerland.
- Sistema Estadístico Pesquero Colombiano SEPEC. 2016. Informes gráficos de capturas desembarcadas. Filtros utilizados para la especie *Prochilodus magdalenae* en la cuenca del Magdalena. Desarrollado por la Universidad del Magdalena con el apoyo del INVEMAR.
- Sivasundar, A.; Bermingham, E. & Ortiz, G. 2001. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (Characiformes) in major South American rivers. *Molecular ecology*, v 10. Pag 407-417
- Sønstebø JH, Borgstrøm R & Heun M. 2007. Genetic structure of brown trout (*Salmo trutta* L.) from the Hardangervidda mountain plateau (Norway) analyzed

by microsatellite ADN: a basis for conservation guidelines. *Conservation Genetics*; v. 8: p. 33-44.

- Sunnucks P., 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology and Evolution* 15 (5): 199-203.
- Valderrama M. & Solano, D. 2004. Estado de la población del bocachico, *Prochilodus magdalenae* (Pises: Characiformes), y su manejo en la cuenca del río Sinú, Colombia. *Dalhia* 7: 3-12.
- Van Oosterhout, C., W. F. Hutchinson, D.P. Wills & P. Shipley. 2004. MICROCHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* v. 4: p. 535-538.
- Wasko, A, Martins, C., Oliveira, C., Senhorini, JA. & Foresti, F. 2004. Genetic monitoring of the Amazonian fish matrinchã (*Brycon cephalus*) using RAPD markers: insights into supportive breeding and conservation programmes. *J. Appl. Ichthyol.*, v. 20(1): p. 48-52.
- Waples RS & Drake J. 2004. Risk-benefit considerations for marine stock enhancement: a Pacific salmon perspective. In: Leber KM, Kitada S, Blankenship HL, Svasand T (eds) *Stock enhancement and sea ranching: developments pitfalls and opportunities*, 2nd edn. Blackwell, Oxford, p 260–306.
- Weir, B.S. 1996. *Genetic Data Analysis II: Methods for discrete population genetic data* (2nd. ed.). Sinauer Assoc., Sunderland, EE.UU.
- Weir, B., & C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* v. 38 (6): p. 1358-1370.
- Welcomme, R. 1979. *Fisheries Ecology of Foodplanin Rivers*. Lodon: Longman Group Limited.
- Wright, E. 1978. *Evolution and Genetics of Population, Vol. 2: The theory of gene frequencies*. Press, London: University of Chicago.
- Wright, S. 1969. *Evolution and the genetics of populations. Volúmen II: The theory of gene frequencies*. The University of Chicago Press, Chicago.

13. ANEXOS

