

**DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE *Prochilodus magdalenae*  
(PISCES: PROCHILODONTIDAE) AGUAS ARRIBA Y ABAJO DE LA REPRESA  
BETANIA, COLOMBIA.**

**PRICELIS PAULIN POLANCO FONTALVO**

**Proyecto de grado para optar al título de Biólogo**

**UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
SANTA MARTA – COLOMBIA**

**2017**

**DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE *Prochilodus magdalenae*  
(PISCES: PROCHILODONTIDAE) AGUAS ARRIBA Y ABAJO DE LA REPRESA  
BETANIA, COLOMBIA.**

**PRICELIS PAULIN POLANCO FONTALVO**

**Proyecto de grado para optar al título de Biólogo**

**DIRECTOR**

**GILBERTO OROZCO BERDUGO**

**M. Sc. Acuicultura y ecología acuática tropical**

**UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
SANTA MARTA – COLOMBIA**

**2017**

### **III. DEDICATORIA**

*Con mucho amor dedicado:*

***A mi madre Rosa María Fontalvo***

*A mis hermanos Rafael Santos Polanco Fontalvo y Jorge Elías Guevara Fontalvo*

*A mis abuelos Justo Fontalvo e Isidora Gómez*

*Y finalmente dedicado a la memoria de mi padre Rafael Santos Polanco*

#### **IV. AGRADECIMIENTOS**

A Dios por darme la voluntad.

A Rosa, mi madre por darme todo su amor, apoyo y concederme los medios.

A mis amigos por creer en mí y ayudarme a creer que era posible.

A mi tutor y amigo Gilberto, por su paciencia, dedicación y confianza.

A la Universidad del Magdalena, el programa de Biología y todo el personal del laboratorio de Genética Molecular del Grupo de Investigación de Biodiversidad y Biología Aplicada

Finalmente agradezco a todos los mecanismos evolutivos que en toda la historia de la vida me han permitido vivir este corto espacio de tiempo.

## V. TABLA DE CONTENIDO

|  |    |
|--|----|
| VI. LISTA DE FIGURAS .....                                 | 6  |
| VII. LISTA DE TABLAS .....                                 | 7  |
| VIII. RESUMEN.....   | 8  |
| IX. ABSTRACT.....  | 9  |
| 1. INTRODUCCIÓN .....                                      | 10 |
| 2. HIPÓTESIS.....  | 17 |
| 3. OBJETIVOS .....   | 17 |
| 3.1 Objetivo general .....                                 | 17 |
| 3.2 Objetivos específicos.....                             | 18 |
| 4. MATERIALES Y MÉTODOS.....                               | 18 |
| 4.1 Área de estudio .....                                  | 18 |
| 4.2 Fase de campo .....                                    | 21 |
| 4.3 Fase de laboratorio .....                              | 21 |
| 4.4 Análisis de datos.....                                 | 22 |
| 5. RESULTADOS.....   | 25 |
| 5.1 Diversidad genética .....                              | 25 |
| 5.2 Estructura genética y diferenciación poblacional ..... | 26 |
| 6. DISCUSIÓN .....   | 31 |
| 6.1 Diversidad genética .....                              | 31 |
| 6.2 Estructura genética y diferenciación poblacional ..... | 36 |
| 7. CONCLUSIÓN .....  | 40 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA.....                                       | 41 |
| 9. ANEXOS .....  | 51 |

## VI. LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Descripción gráfica y taxonómica de *Prochilodus magdalenae*. Tomado y modificado de Mojica et al., (2012)

Figura 2. Mapa de las localidades de estudio en la cuenca del río Magdalena.

Figura 3. Análisis bayesiano de las poblaciones de *Prochilodus magdalenae* en las cinco localidades analizadas.

## VII. LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de cada microsatélite utilizado. 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.  $N$ ; tamaño de la muestra,  $N_A$ ; número de alelos,  $H_o$ ; heterocigosidad observada,  $H_e$ ; heterocigosidad esperada,  $F$ ; índice de fijación y  $P$ ; equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 3. Estimación del índice de  $F_{st}$  entre pares de localidades de *P. magdalенаe* de las cinco localidades muestreadas, usando siete loci de microsatélites.

Tabla 4. Estimación del índice de  $\Phi_{iPT}$  entre pares de individuos de *P. magdalенаe* de los cinco sitios muestreados, usando siete loci de microsatélites.

Tabla 5. Análisis molecular de varianza (AMOVA) para las localidades muestreadas en la cuenca del río Magdalena.

Tabla 6. Análisis Molecular de Varianza adicional para los individuos agrupados por clúster.

Tabla 7. Análisis comparativo de los índices de variabilidad genética obtenido a partir marcadores moleculares microsatélites en algunas especies de peces migratorios presentes en ríos suramericanos. Donde  $R_a$ ; Riqueza alelica,  $H_o$ ; Variabilidad observada y  $H_e$ ; Variabilidad esperada.

## VIII. RESUMEN

La cuenca del río Magdalena, como una de las más importantes de Colombia, cuenta con gran cantidad de especies de peces importantes para la economía y sustento de muchas comunidades en el país. Sin embargo, una reducción marcada en el número de individuos por población de distintas especies asociadas se ha presentado por diferentes factores. Dentro de estos, se destaca la construcción de la represa de Betania, como respuesta a los requerimientos energéticos en Colombia. No obstante, especies migratorias como *Prochilodus magdalenae*, de importancia económica para la pesquería artesanal y ecológica debido a su endemismo, se han visto seriamente afectadas. Por lo que se ha generado la necesidad de analizar su estructura y diversidad genética, teniendo en cuenta la construcción de la represa como posible factor de fragmentación. Para esto, se hace adecuado el uso de microsatélites como marcador molecular en diferentes localidades de estudio aguas arriba y abajo de la represa, lo que permitió evaluar el estado de la diversidad genética de la especie, cómo se encuentra distribuida esta variabilidad en las localidades de estudio y cómo influyen algunos factores como la construcción de la represa sobre su estructura genética. En este sentido, se obtuvieron 111 alelos distribuidos en siete loci 100 % polimórficos. Los promedios generales para la heterocigosidad observada fueron de 0.2169, mientras que para las esperadas fueron de 0.8316. Los estadísticos de *Fst* y *PhiPT* mostraron que existe una moderada diferenciación entre la represa de Betania y todas las localidades muestreadas. El análisis de inferencia bayesiana, detectó la coexistencia de tres poblaciones en la cuenca del río, estando la represa de Betania representada solo por una de las tres poblaciones registradas en la cuenca. Estos resultados se pueden estar presentando, debido a la fragmentación que genera la represa en el río, impidiendo el flujo genético entre las localidades aguas arriba y aguas abajo de la represa.

Palabras clave: Peces reofílicos, microsatélites, fragmentación de ecosistemas



## IX. ABSTRACT

The Magdalena River basin, as one of the most important in Colombia, has a large number of species of species important for the economy and livelihood of many communities in the country. However, a marked reduction in the number of people by the population of different species associated has been presented by different factors. Among these, the construction of the Betania dam stands out, in response to the energy requirements in Colombia. However, migratory species such as *Prochilodus magdalenae*, of economic importance for the artisanal and ecological fishery due to their endemism, have been seriously affected. Therefore, it has generated the need to analyze its genetic structure and diversity, taking into account the construction of representation as a possible fragmentation factor. For this, the use of microsatellites as molecular marker in different localities of upstream and downstream of the dam is adequate, which allowed to evaluate the state of the genetic diversity of the species, how this variability is distributed in the localities. And how some factors influence the construction of the dam on its genetic structure. In this sense, 111 alleles distributed in seven 100% polymorphic loci were obtained. The general averages for observed heterozygosity was 0.2169, while for the expected one it was 0.8316. *Fst* and *PhiPT* statisticians show that there is a moderate differentiation between the representation of Betania and all the sampled localities. The Bayesian inference analysis detected the coexistence of three populations in the river basin, with the Betania dam being represented only by one of the three populations recorded in the basin. These results can be presented, due to the fragmentation generated by the dam in the river, preventing the genetic flow between the localities upstream and the waters below the dam.

Keywords: Rheophilic fish, microsatellites, ecosystem fragmentation

## 1. INTRODUCCIÓN

La fragmentación, es considerada como uno de los principales factores responsables de la alteración del medio ambiente y de los ecosistemas, que afecta la función, estructura y composición en determinado espacio natural (IAVH, 2002). Estas afectaciones provocan una disminución en la conectividad y/o crea bordes en el hábitat, generando cambios en el comportamiento de las especies asociadas a los ambientes fragmentados y por ende aumentando la vulnerabilidad de los organismos (Bustamante y Grez, 1995).

Pese a los reconocidos efectos de la fragmentación del hábitat en la dinámica ecosistémica, la construcción de barreras artificiales como las represas, están ligadas al desarrollo económico y social de una comunidad, dando soluciones al requerimiento de recursos como agua y energía, de las poblaciones humanas (Agostinho et al., 2008; Jiménez-Segura et al., 2014). Sin embargo, su construcción trae fuertes consecuencias sobre todo en el contexto ambiental (Agostinho et al., 2001), donde se pueden destacar los relacionados a la contaminación del recurso hídrico, llegando a generar desde reducciones en la abundancia y número de especies de peces, hasta extinciones locales asociadas a la cuenca intervenida (Rodríguez, 2015).

Considerando la fragmentación del ecosistema como uno de los principales efectos derivados de las represas, se reconoce que esta impide el flujo de las especies migratorias en los cauces de los ríos (Pompeu et al., 2009). Por lo anterior, la construcción descomedida de represas en sudamérica, ha ido deteriorando seriamente los sistemas lóticos, especialmente el componente biótico que lo conforma (Kopas y Puentes, 2009). Es así como se han presentado casos en que algunas especies de peces han incrementado su abundancia o en caso contrario se ha dado el desplazamiento de estos a causa de la construcción de la represa (Agostinho et al., 2008).

Este efecto se ha observado en especies migratorias, donde se puede mencionar a *Prochilodus scrofa* Linnaeus 1758, presente en el río Piquirí en Brasil, cuya estructura poblacional se vió afectada por la represa Itaipú, generando una disminución y dispersión de los individuos presentes en la zona alta de la represa, mientras que en la zona baja se evidenció proliferación de estos (Agostinho et al., 1993). Posterior a esto, se pudo corroborar que las nuevas dinámicas lénticas o semi-lénticas (cambios en la temperatura, pH, estratificación del agua, entre otros) fueron las responsables en el deterioro de la calidad del agua, generando dicha dispersión (Agostinho et al., 2008; Martínez-Silva, 2015).

De esta manera, se reconoce que las represas generan una fragmentación parcial de las poblaciones de peces, donde los individuos sólo son capaces de moverse en una sola dirección a través de la represa aguas abajo (Pelicice et al., 2014). Adicionalmente, se evidencia la afectación en el ciclo reproductivo de peces migratorios de larga distancia, que aun cuando se han implementado tecnologías para permitir el paso, como los sistemas de transposición, se han llegado a catalogar como poco efectivos (Agostinho et al., 2008).

Un claro ejemplo fue evidenciado en varias especies migratorias del río Paraná, Brasil (*Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1850; *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887; *Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1837; y *Rhinelepis aspera* Spix y Agasiz, 1829), donde se demuestra que son escasos los individuos capaces de atravesar el sistema de transposición (Wagner et al., 2012). Esto muestra que la problemática aún expone a los organismos a una reducción gradual de sus poblaciones, haciendolos vulnerables a cualquier cambio ambiental (Kopas y Puentes, 2009).

Ahora bien, toda esta problemática ha despertado el interés de la comunidad científica internacional, por entender cómo responden las poblaciones de especies reofílicas frente a la construcción de estas barreras físicas a nivel molecular. Es así como se hace necesaria la

implementación y uso de herramientas genéticas, para analizar la pérdida de variabilidad en las poblaciones afectadas.

Marcadores moleculares como las regiones de ADN microsatélites, las cuales son secuencias cortas de 1 a 6 bases repetidas en tándem y densamente distribuidos en el genoma de los organismos eucariontes (Hedrick, 2009). Son útiles para calcular diversidad y estructura genética en una determinada población y pueden llegar a ser tan específicos, que pueden diferenciar por patrones de polimorfismo genético a los individuos dentro de una población (Eguiarte et al., 2007).

Estas secuencias también son conocidos también como STR (*Short Tandem Repeats* – Repeticiones Cortas en Tándem), VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats* – Número Variable de Repeticiones en Tándem), STMS (*Sequence Tagged Microsatellites* – Secuencia Etiquetada de Microsatélites) y SSLP (*Single Sequence Length Polymorphisms* – Secuencia Única en Longitud de Polimorfismos). Adicionalmente, estos marcadores son ampliamente utilizados debido al tipo de herencia que se obtiene, permitiendo diferenciar al heterocigoto del homocigoto (Codominantes) y su alto grado de polimorfismo le permite detectar los diferentes estados de un alelo (variantes alélicas) (Sunnucks, 2000).

Estos atributos y el avance en los análisis estadísticos desarrollados para los microsatélites, permite hacer inferencias sobre los niveles de variabilidad genética, endogamia, flujo génico y diferenciación genética entre poblaciones (Silva, 2011). Los microsatélites, también se han utilizado para determinar parentesco, historia demográfica (para buscar evidencia de cuello de botella en poblaciones), analizar el tamaño efectivo poblacional, magnitud y direccionalidad del flujo génico, entre otros (Schlötterer y Pemberton, 1994).

De igual forma, estos marcadores probaron ser útiles en estudios de estructuración poblacional en una variedad de taxa, incluyendo peces (Tautz y Schlotterer, 1994; Jarne y Lagoda, 1996; Wasko y Galetti Jr, 2002; Hatanaka y Galetti Jr, 2003; Panarari, 2006; Sanches y Galetti, 2006), ya que permiten tener mayor resolución de una población desde el punto de vista genético. Su precisión se basa en que pueden ser amplificados por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR- Polymerase Chain Reaction) utilizando pequeñas cantidades de ADN. Debido a su alta especificidad y la alta información contenida, estos marcadores permiten también determinar la identidad basada en estimaciones de formas derivadas de frecuencias alélicas (Kirsti et al.,2005).

Por lo anterior, el uso de microsatélites ha resultado ser muy útil para analizar aspectos genéticos en términos globales para muchas especies de peces migratorios. Como ejemplo de esto, Heggenes y Roed (2006), evaluaron la estructura y variabilidad genética en la especie *Salmo trutta* Linnaeus, 1758, en el río Mana, en Noruega, en donde cuatro hidroeléctricas generaban una barrera parcial para las poblaciones de esta especie. No obstante, aunque los autores consideran que dichas barreras generan fragmentación, aislamiento y diferenciación, los resultados mostraron que mecanismos evolutivos tales como la selección natural y la deriva génica en poblaciones pequeñas, aumentan la diversidad génica de esta especie.

Caso contrario se presentó en Estados Unidos, donde Wofford et al. (2005), para la especie *Oncorhynchus clarki* Richardson, 1836, detectaron baja variabilidad y alta diferenciación genética, debido al aislamiento genético y demográfico producto de la fragmentación de hábitat. Esta problemática conduce a que especies migratorias, alteren sus ciclos reproductivos provocando así un declive de las poblaciones, como el caso de *Salvelinus confluentus* Suckley, 1859 cuyas poblaciones se encuentran fragmentadas por la represa Gabinet Gorge en el río Clark, Estados Unidos (Neraas y Spruell, 2001).

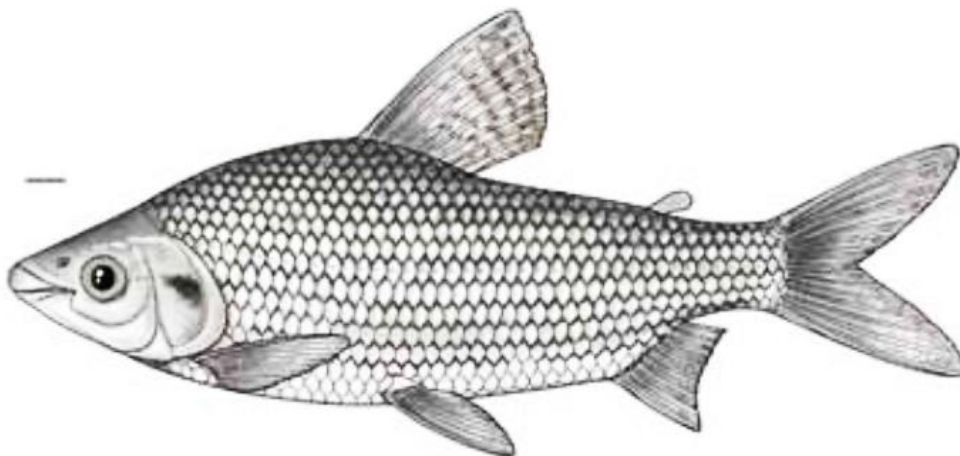
En America Latina se registró la construcción de alrededor de 1600 grandes represas, muchas de las cuales no están reguladas para mitigar el efecto de fragmentación (Kopas y Puentes, 2009). Por lo que el género *Prochilodus*, ha resultado ser un modelo biológico adecuado para entender cómo responden los estos organismos genéticamente frente a las diferentes barreras naturales y artificiales que les pueden afectar (Carvalho-Costa et al., 2008; Jiménez-Segura et al., 2010; Silva, 2011; Barroca et al., 2012a; Orozco y Narváez, 2014; Pelecice et al., 2014; Guevara, 2015).

En este sentido, Carvalho-Costa et al. (2008) a través del uso de microsatélites en la especie migratoria *Prochilodus costatus* Valenciennes, 1850, en un estudio en la represa Tres Marias del río Sao Francisco en Brasil, muestran que ésta población presenta bajos niveles de variación genética observada en comparación con la esperada. Sin embargo, Barroca et al. (2012) previo a la construcción de la hidroeléctrica Retiro Baixo en la misma cuenca, demostró que la variabilidad genética de la especie *P. costatus* se ve reducida a la mitad, por causa de la fragmentación provocada por la construcción de la represa.

Dicho resultado es congruente con la baja variabilidad genética en las poblaciones de *P. costatus*, analizadas por Carvalho-Costa et al. (2008). Con esto, se corrobora que la pérdida de diversidad genética hace más vulnerables a las especies frente a los cambios medio-ambientales (Povh et al., 2008). A pesar de los efectos nocivos generados en la ictiofauna por la construcción de represas, en Colombia esta actividad se convierte en una alternativa para el desarrollo socio-económico, proyectando la construcción de por lo menos 205 embalses para el año 2027 (Jiménez-Segura et al., 2014).

Ahora bien, el río Magdalena considerado como la principal cuenca hidrográfica del país, es uno de los medios de apoyo económico más importante para muchas comunidades asociadas a la pesca como actividad de sustento (Jiménez-Segura et al., 2010). Alberga alrededor de 167 especies de peces, de las cuales se puede resaltar a *Prochilodus magdalenae*

Steindachner, 1879 (Figura 1); especie endémica, conocida comúnmente como Bocachico (Maldonado-Ocampo et al., 2005), que es aprovechada por la pesquería artesanal en la cuenca. Ésta hace parte de la familia de peces Prochilodontidae y se caracteriza por presentar una espina predorsal muy afilada, boca pequeña, prominente, y pequeños dientes, como se muestra en la Figura 1 (Mojica et al., 2014).



### **Taxonomía**

**Orden:** Characiformes

**Familia:** Prochilodontidae

**Especie:** *Prochilodus magdalenae* Steindachner 1878

Figura 1. Descripción gráfica y taxonómica de *Prochilodus magdalenae*. Tomado y modificado de Mojica et al., (2014).

El bocachico como especie migratoria, tiene dos picos reproductivos anuales que concuerdan con los patrones hidrológicos del río Magdalena. En este sentido, el primer pico reproductivo inicia entre diciembre y enero, mientras que el segundo entre julio y septiembre, donde en este último se cree que sólo se reproducen aquellos individuos que no pudieron hacerlo durante el primer ciclo hidrológico del río (Jiménez-Segura et al., 2010).

No obstante, se debe tener en cuenta que la disminución progresiva que se ha venido reportando sobre la cantidad de individuos por poblaciones del bocachico, ha alarmado principalmente al sector económico de las comunidades que dependen de su pesca como actividad de sustento (Jiménez-Segura et al., 2014). Esto debido a que previo a la construcción de la represa de Betania en 1987, se reportaban por año para toda la cuenca aproximadamente 40.000 toneladas producto de la pesca de esta especie (Mojica et al., 2012), mientras que en el año 2016 las cifras para toda la cuenca no sobrepasaron las 2.000 toneladas (SEPEC, 2016). Aunque no se descarta que otros factores como la sobrepesca o la degradación de los habitats de especies con este patrón miratorio (Jiménez-Segura et al., 2014), han generado impactos negativos, se cree que la construcción de represas hace que estas cambien su estructura poblacional, segregándose por las alteraciones en su dinámica reproductiva (Agostinho et al., 1993), lo que ha propiciado ya la extinción local en otras especies migratorias como la Dorada (*Brycon moorei* Steindachner, 1878), en la parte alta de la cuenca del Magdalena (Rodríguez, 2015).

Debido a su importancia pesquera, esta especie ha sido sometida a estudios ecológicos (Jiménez-Segura et al., 2010; Ramírez y Pinilla, 2012), reproductivos (Atencio, 2001; Cortés, 2003) y de conservación (Cortés, 2003; Maldonado-Ocampo et al., 2005), pero pocos han sido los trabajos a nivel molecular en Colombia. Sin embargo, cabe resaltar que existen investigaciones usando otro tipo de marcadores moleculares, en otras especies reofílicas. Un ejemplo de esto se presenta en *Brycon henni* Eigenmann, 1913, pez nativo del río Magdalena, cuyas poblaciones fueron evaluadas con marcadores moleculares RAPD. Éstas presentaron diferenciación genética, lo que sugirió un aislamiento por distancia producto del comportamiento migratorio en cortas distancias de la especie, donde no se descarta la separación de grupos genéticos de los embalses que se encuentran construídos sobre los afluentes de esta cuenca (Hurtado-Alarcón et al., 2011).



No obstante, estudios desarrollados con microsátélites, se pueden destacar los realizados para la especie *Prochilodus magdalenae* por Santacruz (2003), Orozco y Narváez (2014) y Guevara (2015) (ver Tabla 7), donde se exhiben para todos los casos bajos valores de variabilidad influenciados por diferentes factores que incluyen la sobrepesca, barreras tanto artificiales como naturales, entre otras, lo que permite evidenciar el estado crítico de la especie (Orozco y Narváez 2014).

Considerando la distribución geográfica de esta especie (Maldonado-Ocampo et al., 2005) y su categoría de amenaza como vulnerable (Mojica et al., 2012), el uso de microsátélites como marcadores moleculares, resultan útiles para evaluar la estructura y diversidad genética del bocachico posterior a la construcción de la represa de Betania en 1987, en la parte media y alta de la cuenca del río Magdalena, Colombia.

## **2. HIPÓTESIS**

- La distribución de la diversidad genética de *Prochilodus magdalenae* no es homogénea en el área de estudio, debido a existencia de una barrera artificial que impiden la continuidad de la población, mostrando niveles diferenciales de variabilidad en cada localidad.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo general**

Evaluar la diversidad y estructura genética de *Prochilodus magdalenae*, después de la construcción de la represa Betania en la cuenca del río Magdalena, Colombia.

### 3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar la variabilidad genética de *P. magdalенаe* en cinco localidades ubicadas aguas arriba y abajo de la represa Betania en la parte media y alta de la cuenca del río Magdalena a través del uso de microsatélites.
- Determinar la estructura genética de *P. magdalенаe* posterior a la construcción de la represa de Betania en localidades ubicadas aguas arriba y aguas abajo de la represa de Betania en la parte media y alta de la cuenca del río Magdalena.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Área de estudio

La cuenca del río Magdalena ocupa un área de 257438 km<sup>2</sup>, representando un 24 % del territorio nacional, que además colinda con 18 departamentos donde cerca del 80 % de la población depende de esta cuenca como un importante eje de desarrollo económico (Lasso et al., 2011). Presenta tres divisiones que son: Alto Magdalena; el cual tiene una altura aproximada desde su nacimiento en los 3685 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.), hasta Honda en los 229 m.s.n.m. La segunda división o Medio Magdalena; que va desde los 229 hasta los 33 m.s.n.m. en el municipio de El Banco departamento del Magdalena. Finalizando la tercera división o bajo Magdalena; en la desembocadura del río Magdalena que va desde los 33 m.s.n.m. hasta el nivel del mar (IDEAM y Cormagdalena, 2001).

En esta cuenca, se pueden identificar varias represas responsables de la generación de energía entre las cuales se pueden destacar las hidroeléctricas Prado en Tolima, Salvajina en Cauca y/o Betania en el Huila. Siendo esta última, la represa más grande construida en Colombia

después del Quimbo. Cubre aproximadamente un área de inundación de 7400 ha, con una longitud de 23 km y 91 m de altura. Cuenta además con dos zonas marcadas que son los subembalses del Magdalena y Yaguará. Además, presenta caudales promedio de  $438 \text{ m}\cdot\text{seg}^{-1}$ , afectando aproximadamente a 420 habitantes (Hernandez, 2011).

Para el desarrollo del presente estudio se seleccionaron cinco sitios de muestreo abarcando la parte Alta y Media del río Magdalena. Cuatro de las cinco localidades (Boyacá, La Dorada, Saldaña y Neiva) se ubicaron aguas abajo de la represa de Betania, mientras que una sola localidad se ubicó aguas arriba de la represa, con las coordenadas geográficas que se muestran en la Figura 2.

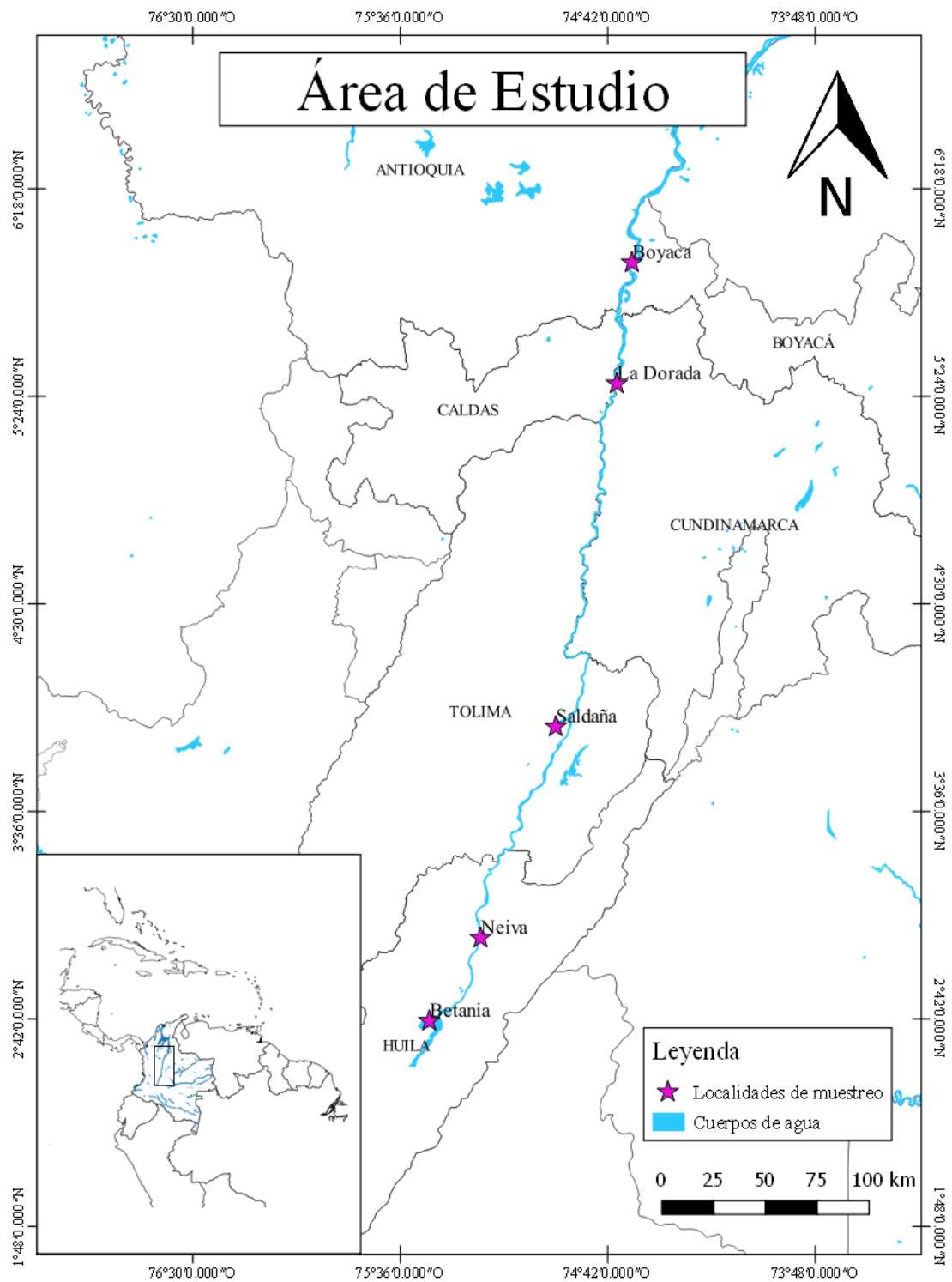


Figura 2. Mapa de las cinco localidades de estudio en la cuenca del río Magdalena, Colombia.

## **4.2 Fase de campo**

Un total de 171 especímenes fueron recolectados en el cauce principal del río en cuatro sitios ubicados aguas abajo de la represa de Betania en el río Magdalena y en tributarios como el río Saldaña, así como un sitio aguas arriba de la represa, entre los meses de abril del 2010 y noviembre del 2012 (Figura 2). 40 individuos pertenecientes a la localidad de Boyacá, 40 a La Dorada, 19 de Neiva, 29 de Betania y finalmente 43 de Saldaña. Posterior a esto se tomaron muestras de tejido muscular del pedúnculo caudal y se fijaron en etanol al 96%.

Las muestras fueron obtenidas con la ayuda de la flota artesanal y desembarques pesqueros en las cinco localidades descritas en la Figura 2. Se tuvo en cuenta el cuidado de la toma de muestras de tejido muscular junto a la flota artesanal, ya que dichas embarcaciones no tienen mucha autonomía y siempre pescan cerca al sitio de desembarque, garantizando que las muestras obtenidas pertenecieran a individuos capturados cerca a las localidades seleccionadas.

La presente tesis 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) del grupo de investigación de ecología y biodiversidad aplicada de la Universidad del Magdalena.

## **4.3 Fase de laboratorio**

De los ejemplares recolectados, el ADN genómico fue extraído del músculo usando el kit MasterPure™ (Epicentre Biotechnologies®). El ADN fue verificado a través de un gel de

agarosa al 0,8 % teñido con GelRed y una corrida a 80 voltios durante 30 minutos. Se utilizaron siete *loci* de microsatélites (Tabla 1), descritos para *P. lineatus* con una amplificación cruzada en *P. magdalenae* (Rueda et al., 2011). La reacción de amplificación se realizó siguiendo las condiciones propuestas por Rueda et al. (2011) y Orozco y Narváez (2014). El volumen final utilizado fue de 10  $\mu$ l, conteniendo 100 ng de ADN, 1 X de reacción buffer, 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ M de dNTPs, 0,2  $\mu$ M de cada cebador y 0,25 U de *Taq* polimerasa. 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. Las reacciones fueron realizadas en un termociclador con gradiente de temperatura ESCO-SWIFT MaxPro.

Los productos de la amplificación fueron analizados por electroforesis capilar QIAxcel Advanced (QIAGEN) usando un kit de alta resolución (High Resolution Kit QIAGEN) y una escalera de peso molecular de concentración conocida (DNA SizeMarker 50-800 bp v2.0 QIAGEN). El tamaño de cada producto amplificado fue determinado con el programa ScreenGel QIAxcel v1.0 QIAGEN, los cuales permitieron cuantificar el peso de cada banda y consecuentemente distinguir el genotipo de cada individuo.

#### **4.4 Análisis de datos**

A partir de la matriz final de datos que contiene el genotipo de todos los individuos, fue verificada la diferencia entre los tamaños de los alelos presentes en la población con la ayuda del programa MSTOOLS (Park, 2001). Este mismo programa se utilizó para la generación de los diferentes archivos de entrada utilizados en los diferentes programas descritos a continuación. La presencia de errores en la genotipificación derivados de artefactos técnicos, o pérdida de alelos por la mala calidad del ADN fue evaluada con el programa MICRO-CHECKER (Van Oosterhout et al., 2004) remuestreando los alelos de cada locus a través de

simulaciones *bootstrap*, creando así intervalos de confianza entre la frecuencia esperada de homocigotos y heterocigotos para los alelos registrados.

Tabla 1. Descripción de cada microsatélite utilizado. 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) <sub>n</sub>    | 50     | 6     | 185-203                  | F: 5'-TCTGAGCTGTGAGGAATGGA-3'<br>R: 5'-AGAGCGCTCAAGCACAAGAT-3'   |
| PL14  | (CA) <sub>n</sub>    | 61     | 11    | 104-134                  | F: 5'-TGCCCAACACTGAAACTGAG-3'<br>R: 5'-CTCATCAACCTGCCTGGAAT-3'   |
| PL23  | (CA) <sub>n</sub>    | 59     | 3     | 244-252                  | F: 5'-TTGGCTACTTCCCCAAACAC-3'<br>R: 5'-GGGGAAGTGTGACGATGC-3'     |
| PL28  | (CA) <sub>n</sub>    | 59     | 3     | 239-249                  | F: 5'-GAAGCTTGGGCTCTTGACAT-3'<br>R: 5'-CGTTTGCCTCTAGCCTTTTG-3'   |
| PL34  | (CA) <sub>n</sub>    | 56     | 10    | 178-212                  | F: 5'-GAGCGGATTCTCCACATGAT-3'<br>R: 5'-TAATGTGCTCCCTCCCACAG-3'   |
| PL64  | (CA) <sub>n</sub>    | 62     | 13    | 158-180                  | F: 5'-AGAGCAACACAGGGAGGAGT-3'<br>R: 5'-ACGCTCTGCTCAGCCATACT-3'   |
| PL119 | (CA) <sub>n</sub>    | 58     | 12    | 161-207                  | F: 5'-GAAAAAGGCTAGGGGACTGG-3'<br>R: 5'-GAGGAAAATTGCCTTTTGTAGG-3' |

La diversidad genética fue determinada para cada población analizando el número de alelos por locus ( $N_A$ ), heterocigosidad observada ( $H_o$ ) y heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) usando el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2006). El coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) para los siete loci fueron calculados en FSTAT (Goudet, 1995). El equilibrio de *Hardy-Weinberg* ( $p < 0.05$ ) fue calculado usando una prueba análoga a la prueba exacta de Fisher (Guo y Thompson, 1992) que tiene como hipótesis nula la unión aleatoria de gametos. Esta prueba fue estimada con una serie de permutaciones de la Cadena de Markov Monte Carlo (MCMC)

(10000 batches / 1000 iteraciones) implementados en GENEPOP (Raymond y Rousset, 1995).

La segregación independiente de los genotipos o desequilibrio de ligamiento, fue comprobado usando pruebas exactas con MCMC (10000 batches/ 1000 iteraciones) (Guo y Thompson, 1992), implementados en GENEPOP. Para verificar la distribución de la variancia molecular entre los grupos naturales de poblaciones, la existencia de poblaciones genéticamente diferenciadas de *P. magdalenae* entre las localidades del canal principal del río Magdalena y la represa; y evaluar el grado de significancia de la variabilidad genética entre y dentro de las localidades se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) en el programa ARLEQUÍN 3.1 (Schneider *et al*, 2000).

Este análisis examinó la distribución de la variabilidad genética dentro de diferentes niveles jerárquicos a diferentes escalas geográficas en la cuenca del río Magdalena. En este caso, los niveles jerárquicos fueron evaluados así: 1) todas las poblaciones como un grupo, 2) Un grupo compuesto por las localidades presentes en el cauce principal en el río Magdalena sin los tributarios (Río Saldaña) y 3) finalmente considerando a la represa de Betania como un grupo independiente de las demás localidades.

Además de esto, el programa ARLEQUIN 3.1 fue empleado para calcular los valores de  $F_{ST}$  por parejas (Weir y Cockerham, 1984) estimados para cada par poblacional. Fue utilizado el  $F_{ST}$ , ya que este es el índice más usado para la estimación de distancias génicas en poblaciones de peces (O'connell y Wright, 1997), además de ser el más adecuado en estudios que contengan muestras de tamaño moderado a pequeño (menos de 50) y se utilicen menos de diez *loci*. Adicionalmente, se utilizó el índice  $PhiPT$  como prueba análoga, basados en la hipótesis que los *loci* no se encuentran bajo los supuestos de equilibrio de *Hardy-Weinberg*.



La metodología de agrupamiento bayesiano de STRUCTURE versión 2.3.3 (Hubisz et al., 2009) fue aplicada para identificar grupos de individuos genéticamente similares y determinar el nivel de estructura genética en los datos independiente de las áreas muestreadas. Este programa realiza una prueba de asignación donde los individuos son clasificados basados en probabilidades de pertenecer a uno o más grupos cuando la población es genéticamente mezclada.

Para estimar el número de subpoblaciones (K), 20 corridas independientes de  $K = 1 - 8$  fueron llevadas a cabo con 10000 repeticiones de MCMC, con 1000 periodos de *burn-in*, usando información LOC-PRIOR y asumiendo frecuencias alélicas correlacionadas (*Allele Frequencies Correlated*). El patrón de migración de *P. magdalenae* incluye la existencia de un fuerte flujo génico entre las poblaciones, por lo tanto se usó el modelo de mezcla (*Admixture Model*) que supone que cada individuo tiene la misma proporción de herencia de su ancestro en cada población. Para determinar el número de poblaciones (K) presentes, se utilizó un método propuesto por Evanno et al. (2005). Este valor fue obtenido usando el programa STRUCTURE HARVESTER 0.56.3 (Earl y von Holdt, 2012).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Diversidad genética

Todos los microsatélites evaluados fueron polimórficos (100%) en los ejemplares de *P. magdalenae* de las diferentes localidades del río Magdalena donde se tomaron las muestra. Un total de 111 alelos se encontraron distribuidos en los cinco sitios de muestreo. Betania con un promedio de 8,7 de alelos por locus fue la de menor cantidad, mientras que Saldaña con 10,25 fue la de mayor promedio como se observa en la Tabla 2. Los loci PL28 y PL34 presentaron menor cantidad de alelos con 5 cada uno, mientras que P119 tuvo 16 (Tabla 2).

Por otro lado, la  $H_o$  en promedio para todas las localidades fue de 0,21, siendo la población de Saldaña la que presentó el índice más bajo con 0,11 y Betania la de mayor  $H_o$  con 0,27. No obstante, la  $H_e$  fue considerablemente más alta que la  $H_o$ , con promedios para todas las localidades de 0,83. Se obtuvieron valores entre 0,80 y 0,84 para los sitios de muestreo de Betania y Saldaña respectivamente, como se observa en la Tabla 2. Todas las localidades muestreadas presentaron desequilibrio de *Hardy-Weinberg* asociado a un déficit de heterocigotos. Adicionalmente, se encontró que todos los loci de microsatélites utilizados en el presente estudio presentaron alelos nulos en los ejemplares analizados y no hubo desequilibrio de ligamiento

## **5.2 Estructura genética y diferenciación poblacional**

La prueba de  $F_{st}$  mostró un valor global de 0,065 indicando una moderada diferenciación, según la escala de Wright entre las localidades examinadas. Entre cada par de poblaciones, este índice presentó fluctuaciones que van desde localidades con baja diferenciación como Boyacá – La Dorada ( $F_{st}$  de 0,007), hasta localidades con moderada diferenciación como La Dorada y Saldaña ( $F_{st}$  de 0,094), tal como se observa en la Tabla 3.

Al igual que los valores de  $F_{st}$ , el índice de  $PhiPT$  mostró valores van desde una baja a una moderada diferenciación genética entre la mayoría de las localidades. Es importante resaltar que pesar de la poca distancia geográfica entre la localidad de Neiva y la represa de Betania, los valores registrados para estos índices evidenciaron una moderada diferenciación genética existente entre estas localidades.

Tabla 2. Tabla general de resultados.  $N$ ; tamaño de la muestra,  $N_A$ ; número de alelos,  $H_o$ ; heterocigosidad observada,  $H_e$ ; heterocigosidad esperada,  $F$ ; índice de fijación y  $P$ ; equilibrio de Hardy-Weinberg.

| Sitio Muestreado   | Estadístico | Loci   |        |        |        |        |        |        | Media  |
|--------------------|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                    |             | PL28   | PL14   | PL23   | PL34   | PL64   | PL119  | PL3    |        |
| Boyacá<br>(N= 40)  | $N_A$       | 8      | 14     | 8      | 8      | 9      | 14     | 10     | 10.14  |
|                    | $H_o$       | 0,000  | 0,200  | 0,237  | 0,050  | 0,579  | 0,065  | 0,250  | 0,199  |
|                    | $H_e$       | 0,761  | 0,903  | 0,817  | 0,755  | 0,838  | 0,913  | 0,810  | 0,844  |
|                    | $F$         | 1,000  | 0,778  | 0,710  | 0,934  | 0,309  | 0,929  | 0,691  | 0,765  |
|                    | $P$         | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| Dorada<br>(N= 40)  | $N_A$       | 10     | 12     | 8      | 5      | 10     | 13     | 8      | 9,429  |
|                    | $H_o$       | 0,050  | 0,310  | 0,175  | 0,075  | 0,475  | 0,406  | 0,308  | 0,25   |
|                    | $H_e$       | 0,800  | 0,878  | 0,818  | 0,684  | 0,830  | 0,891  | 0,778  | 0,825  |
|                    | $F$         | 0,938  | 0,647  | 0,786  | 0,890  | 0,428  | 0,544  | 0,605  | 0,691  |
|                    | $P$         | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| Neiva<br>(N= 19)   | $N_A$       | 7      | 13     | 9      | 6      | 8      | 16     | 6      | 9,286  |
|                    | $H_o$       | 0,000  | 0,211  | 0,316  | 0,176  | 0,500  | 0,211  | 0,368  | 0,254  |
|                    | $H_e$       | 0,715  | 0,891  | 0,861  | 0,607  | 0,792  | 0,925  | 0,785  | 0,838  |
|                    | $F$         | 1,000  | 0,764  | 0,633  | 0,709  | 0,368  | 0,772  | 0,531  | 0,683  |
|                    | $P$         | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| Betania<br>(N= 29) | $N_A$       | 5      | 12     | 12     | 8      | 6      | 12     | 6      | 8,714  |
|                    | $H_o$       | 0,000  | 0,143  | 0,643  | 0,333  | 0,208  | 0,536  | 0,000  | 0,271  |
|                    | $H_e$       | 0,571  | 0,879  | 0,865  | 0,785  | 0,747  | 0,878  | 0,717  | 0,804  |
|                    | $F$         | 1,000  | 0,837  | 0,257  | 0,575  | 0,721  | 0,390  | 1,000  | 0,683  |
|                    | $P$         | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| Saldaña<br>(N= 43) | $N_A$       | 6      | 13     | 10     | 9      | 9      | 16     | 9      | 10,29  |
|                    | $H_o$       | 0,000  | 0,122  | 0,116  | 0,023  | 0,140  | 0,186  | 0,186  | 0,11   |
|                    | $H_e$       | 0,812  | 0,888  | 0,777  | 0,785  | 0,794  | 0,913  | 0,832  | 0,847  |
|                    | $F$         | 1,000  | 0,863  | 0,850  | 0,970  | 0,824  | 0,796  | 0,776  | 0,869  |
|                    | $P$         | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |

Tabla 3. Estimación del índice de *Fst* entre pares de localidades de *P. magdalенаe* de las cinco localidades muestreadas, usando siete loci de microsatélites.

| Población | Boyacá | Dorada       | Neiva        | Betania      | Saldaña      |
|-----------|--------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Boyacá    | 0      | 0,641+-0,015 | 0,000+-0,000 | 0,000+-0,000 | 0,000+-0,000 |
| Dorada    | 0,007  | 0            | 0,000+-0,000 | 0,000+-0,000 | 0,000+-0,000 |
| Neiva     | 0,074  | 0,072        | 0            | 0,000+-0,000 | 0,000+-0,000 |
| Betania   | 0,085  | 0,091        | 0,078        | 0            | 0,000+-0,000 |
| Saldaña   | 0,093  | 0,094        | 0,078        | 0,091        | 0            |

Debido a que todas las localidades presentaron desviaciones en el equilibrio de *Hardy-Weinberg*, se realizó la prueba no paramétrica análoga a *Fst*: *PhiPT* para estimar la diferenciación genética entre las localidades. La prueba mostró que entre las localidades de Boyacá–La Dorada y Neiva–La Dorada, se registraron los valores más bajos para este índice, indicando una baja diferenciación entre estas localidades. En los demás análisis pareados entre localidades, se encontró una moderada diferenciación genética como se observa en la Tabla 4. Cabe resaltar, que la represa de Betania registra los valores más altos para este índice.

Tabla 4. Estimación del índice de *PhiPT* entre pares de individuos de *P. magdalенаe* de los cinco sitios muestreados, usando siete loci de microsatélites.

| Población | Boyacá | Dorada | Neiva | Betania | Saldaña |
|-----------|--------|--------|-------|---------|---------|
| Boyacá    | 0      |        |       |         |         |
| Dorada    | 0,010  | 0      |       |         |         |
| Neiva     | 0,051  | 0,047  | 0     |         |         |
| Betania   | 0,056  | 0,057  | 0,059 | 0       |         |
| Saldaña   | 0,054  | 0,053  | 0,054 | 0,061   | 0       |

El Análisis Molecular de Varianza el cual consistió en la agrupación de las localidades muestreadas en diferentes niveles o escalas jerárquicas, mostró que al tomar a todas las localidades muestreadas como un solo grupo, se registró un valor *Fst* de 0,065 que indica una moderada diferenciación según la escala de Wright. Aproximadamente el 6,6 % de la diversidad detectada por los microsatélites está distribuida entre las poblaciones, mientras que cerca de 93,41 % está distribuido dentro de las poblaciones como se muestra en la Tabla 5.

El segundo agrupamiento, tuvo como objetivo evaluar el efecto de los tributarios del río Magdalena sobre la distribución de la variación genética de la población. En este segundo grupo, se eliminó al río Saldaña del análisis, encontrando un valor de *Fst* de 0,031, indicando la inexistencia de diferenciación genética entre las localidades consideradas. El tercer agrupamiento, tuvo por objetivo evaluar si la construcción de la barrera había causado un efecto sobre el acervo genético de la población. Lo anterior mostró un valor bajo en el índice de *Fst* (0,017) como lo indica la tabla 5.

Tabla 5. Análisis molecular de varianza (AMOVA) en las localidades de *P. magdalenae*.

| Muestra   | %Entre grupos | %Dentro de los grupos | <i>p</i> -valor | <i>Fst</i> |
|---|---------------|-----------------------|-----------------|------------|
| Todas las localidades como un solo grupo          | 6,60          | 93,41                 | <0,001          | 0,065      |
| Un solo grupo sin tributarios (río Saldaña)       | 3,20          | 96,81                 | <0,001          | 0,031      |
| Cauce principal y represa Betania como dos grupos | 1,77          | 98,23                 | <0,001          | 0,017      |

Sin embargo, el Análisis Molecular de Variancia (AMOVA) y los índices *Fst* y *PhiPT*, requieren de una definición *a priori* de las subpoblaciones o localidades muestreadas, y ese agrupamiento puede no corresponder a verdaderos grupos biológicos. Por lo tanto, para verificar la veracidad de la diferenciación encontrada, se realizó un análisis bayesiano en el programa Structure, el cual identificó la presencia de tres poblaciones que coexisten en la cuenca del río Magdalena como se observan en la Figura 3.

La mayor parte de los individuos de las localidades de Boyacá y La Dorada se asignaron al primer clúster (Verde), mientras que en el caso de Neiva y Betania, la mayoría de los individuos se asignaron al segundo clúster (Rojo). Finalmente, se identificó a la mayoría de los individuos presentes en el río Saldaña como una población asignada al tercer clúster (Azul).

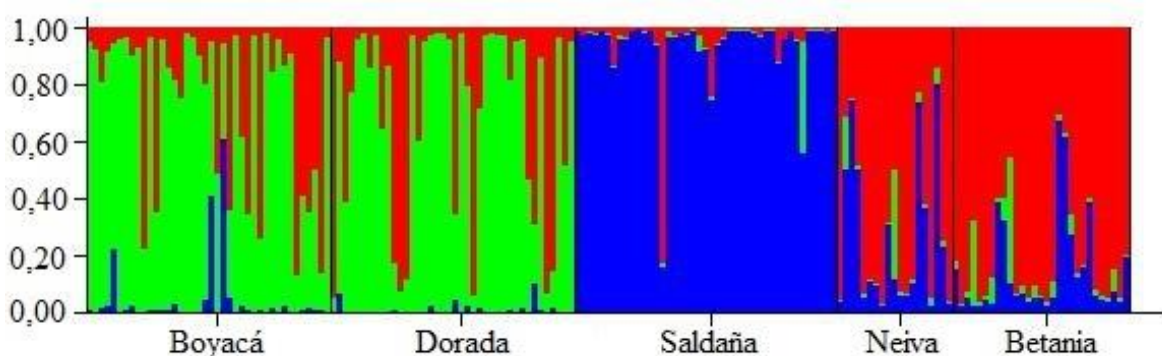


Figura 3. Análisis bayesiano de las poblaciones de *Prochilodus magdalenae* en las cinco localidades analizadas.

Un análisis molecular de varianza AMOVA adicional se realizó teniendo en cuenta la agrupación de los individuos por clúster, indistintamente de la localidad de origen para corroborar los resultados del análisis bayesiano obtenido en el programa STRUCTURE. Los resultados mostrados en la Tabla 6 indican una moderada diferenciación para el estadístico *Fst* de 0,08 con un alto nivel de significancia.

Tabla 6. Análisis Molecular de Varianza adicional para los individuos agrupados por clúster.

|  | Porcentaje de Variación | <i>p</i> -valor | Fst  |
|--|-------------------------|-----------------|------|
| Entre poblaciones                          | 8,86                    |                 |      |
| Entre individuos dentro de las poblaciones | 69,76                   | <0,001          | 0,08 |
| Dentro de los individuos                   | 21,37                   |                 |      |

## 6. DISCUSIÓN

### 6.1 Diversidad genética

La creciente demanda sobre el recurso energético en Colombia, ha generado la necesidad de fortalecer el campo hidroeléctrico con la construcción de represas, que afectan la ictiofauna del río Magdalena. Factores como el cambio en la oferta de alimento, aumento de especies invasoras o reducción de poblaciones con algún interés pesquero, se han documentado en Colombia por efecto de la construcción de represas (Jiménez-Segura et al., 2014).

Mojica et al. (2012) muestran la evolución histórica de las capturas totales de *P. magdalenae* en el río Magdalena, donde se observa la disminución gradual que han venido sufriendo las poblaciones de la especie; coincidiendo además con la construcción de la represa de Betania en 1987. No obstante, no se descartan otros factores antropogénicos mas visibles sobre el recurso pesquero como lo es la sobrepesca o contaminación del agua (Jiménez-Segura et al., 2014; Martínez-Silva, 2015).

Estos efectos no sólo son observables a nivel ecosistémico (Agostinho *et al.*, 1993). Al igual que en otras especies, a nivel molecular se ha demostrado que el represamiento de los ríos influye en la baja diversidad genética de las especies. Tal es el caso reportado por Carvalho-Costa *et al.* (2008) y Rueda *et al.* (2011) para las especies *Prochilodus costatus* y *Prochilodus lineatus* en el río Sao Francisco (Brasil), donde reportan valores de diversidad por debajo de 0,5. Los datos registrados por estos autores muestran que entre los índices de *He* y *Ho* no exhiben una diferencia mayor a 0,2 en *P. costatus* y *P. lineatus*, mientras que los datos de Orozco y Narváez (2014) y Guevara (2015) para *P. magdalenae* en la cuenca del Magdalena y Catatumbo respectivamente, muestran una diferencia entre estos índices que supera los 0,5, coincidiendo de esta manera con los datos obtenidos en el presente estudio (Tabla 7).

En términos comparativos, no existen muchos trabajos que utilicen marcadores microsatélites para evaluar las características genéticas de las poblaciones de peces migratorios en Suramérica (Olivera *et al.*, 2009). Sin embargo, los valores de variabilidad genética registrados para *P. magdalenae*, no son comparables a los observados para sus congéneres, así como también para otras especies de importancia comercial que realizan largas migraciones, ya que los niveles de heterocigosidad observada (*Ho*) para la población de bocachico está entre los valores más bajos registrados para todo el grupo (Tabla 7).



Tabla 7. Análisis comparativo de los índices de variabilidad genética obtenido a partir marcadores moleculares microsátélites en algunas especies de peces migratorios presentes en ríos suramericanos. Donde Ra; Riqueza alelica, Ho; Variabilidad observada y He; Variabilidad esperada.

| Especie                            | Río           | N°    |      |            |           | Autor                       |
|------------------------------------|---------------|-------|------|------------|-----------|-----------------------------|
|                                    |               | Locus | Ra   | Ho         | He        |                             |
| <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 argenteus</i>       | Sao Francisco | 4     |      | 0,05-0,647 | 0,05-0,91 | Hatanaka et al., 2006       |
| <i>Prochilodus argenteus</i>       | Sao Francisco | 8     |      | 0,56       | 0,6       | Galzarani, 2007             |
| <i>Prochilodus costatus</i>        | Sao Francisco |       |      |            | 0,78      | Barroca et al., 2012a       |
| <i>Prochilodus argenteus</i>       | Sao Francisco |       |      |            | 0,81      | Barroca et al., 2012b       |
| <i>Brycon hilarii</i>              | Miranda       | 7     | 8,1  | 0,57       | 0,67      | Sanches, 2007               |
| <i>Pseudoplatystoma corruscans</i> | Sao Francisco | 6     |      | 0,6981     | 0,73      | Dantas, 2010                |
| <i>Prochilodus magdalenae</i>      | Sinú          | 7     |      | 0,273      | 0,854     | Santacruz, 2003             |
| <i>Prochilodus magdalenae</i>      | Magdalena     | 7     | 11,5 | 0,276      | 0,878     | Orozco y Narváez, 2014      |
| <i>Prochilodus magdalenae</i>      | Catatumbo     | 7     |      | 0,23       | 0,84      | Guevara, 2015               |
| <i>Prochilodus magdalenae</i>      | Magdalena     | 7     |      | 0,21       | 0,83      | Este estudio                |

Cabe resaltar que en el estudio realizado por Orozco y Narváez (2014), existen localidades que se encuentran distantes de la represa de Betania, por ende no se tiene clara certeza que la baja variabilidad sea únicamente por causa de la fragmentación del ecosistema. Sin embargo, no se descarta que los efectos localizados de represas como Hidrosogamoso u otras mas pequeñas que se encuentran en el río Magdalena, estén influyendo en la baja variabilidad en esta población. Adicionalmente es importante identificar si estas poblaciones han experimentado una reducción drástica en su tamaño, ya que esta reducción puede acelerar la pérdida de variabilidad genética y fijación moderada de alelos deletéreos, así como también reducir su potencial evolutivo aumentando la probabilidad de extinción de la misma (Luikart y Cornuet, 1998; Vrijenhoek, 1998).

Fueron registrados desvíos en el HW para todos los loci analizados, presentando un déficit significativo de heterocigotos conforme a lo demostrado con las pruebas realizadas. Adicionalmente, este desvio se puede comprobar debido a los valores positivos registrados para el índice de fijación (F). En estudios realizados con poblaciones de peces, es común encontrar este tipo de comportamiento (Carvalho-Costa et al., 2008; Hatanaka et al., 2006; Sanches, 2007; Silva, 2011). Estos autores, sugieren que la posible deficiencia de heterocigotos en una población puede ser generada por: Errores de muestreo (subestimación de alelos); Problemas técnicos como la presencia de alelos nulos, *stuttering* o *drop-out* de alelos o Efecto Whalund (exceso de homocigotos por solapamiento de poblaciones); Selección de alelos (García De León et al., 1997; Pereira et al., 2009, Xu et al., 2001).

El efecto Whalund, implica la existencia de más de una población en cada una de las localidades muestreadas. Con la ayuda de procedimientos bayesianos, en el presente estudio se pudo identificar la presencia de más de una población en cada localidad de muestreo, corroborando así la existencia de efecto Whalund en las poblaciones del bocachico. Este resultado concuerda con lo reportado por Orozco y Narváez, (2014). Sin embargo, determinar específicamente cual es la causa responsable del déficit de heterocigotos en una población no es una tarea fácil, pues se hace más complejo aun identificar como y cuáles son las interacciones de las poblaciones en medio natural. Debido a lo anterior, el déficit de heterocigotos no puede ser explicado solo con una hipótesis, pues la interacción de los diferentes factores antes mencionados pueden estar contribuyendo a este resultado (Sanches, 2007).

No obstante, los resultados obtenidos pueden estar relacionados con el comportamiento migratorio de *P. magdalенаe* durante el año (Atencio, 2001; Cortés, 2003; Jiménez-Segura et al., 2010; Mojica et al., 2012), debido a que factores intrínsecos a las poblaciones también pueden contribuir a dicha pérdida de variabilidad. Un ejemplo de ello es la reducción en el tamaño de la población debido a la sobrepesca, siendo mas susceptibles durante la fase de

migración reproductiva (Jimenez-Segura et al., 2014). Lo anterior conlleva a la pérdida en la población de individuos portadores de variabilidad genética adaptativa (alelos) y disminuyendo su potencial evolutivo. Otro factor importante a considerar, son los repoblamientos mal direccionados a partir de *stocks* provenientes de granjas piscícolas que posiblemente pueden incrementar la homocigosis en medio natural.

Este hecho fue evidenciado a través de procedimientos bayesianos en la represa de Betania, mostrando una homogeneidad genética de la población allí establecida. Asimismo se resalta la relación genética entre las localidades de Neiva y Betania, lo que indica un flujo genético entre las mismas a pesar de la existencia de la barrera. Esto se relaciona principalmente con el transporte manual de individuos y los programas de repoblamiento que se realizan en la represa de Betania (Fundación Humedales, 2008). Lo anterior, puede ser un factor determinante en la baja variabilidad reportada en estos sectores dado que se desconoce el manejo de los alevines y los reproductores de bocachico que se están liberando dentro de la represa (Guevara, 2015).

Otro factor no menos importante, es la fragmentación de hábitat debido al relleno de las ciénagas en las cuales la especie las utiliza como sitio de alimentación y crianza, construcción de embalses y represas como el caso de Betania la cual fragmenta el acervo genético de la población. En consecuencia, la fragmentación y/o obstrucción de las rutas de migración, altera la estructura y diversidad genética de esta especie, reflejándose tanto en los valores de variabilidad obtenidos en el presente estudio, así como también en otros modelos biológicos que presentan el mismo patrón migratorio cuyos cauces han sido sujetos a la construcción de represas (Carvalho-Costa *et al.* 2008; Rueda *et al.* 2011; Sanches *et al.* 2012; Orozco y Narváez, 2014; Guevara, 2015) (Tabla 7).

Ahora bien, el modelo reproductivo del bocachico es dependiente de los ciclos hidrológicos del río en que habita; y en el Magdalena, se reconocen dos picos migratorios donde participan

activamente los individuos de esta especie (Jiménez-Segura *et al.*, 2010). Sin embargo, es posible que el represamiento de las aguas en esta parte del río afecte otras especies que tengan el mismo comportamiento migratorio del bocachico, lo que podría evidenciar una baja diversidad genética en otras especies asociadas a esta cuenca (Carvalho-Costa *et al.*, 2008). Cabe resaltar, que el agua represada en el sistema puede tomar comportamientos de tipo léntico, aumentando así las concentraciones de la materia orgánica y de esta manera acelerando los cambios estructurales en la comunidad ictiológica asociada (Agostinho *et al.*, 2008; Martínez-Silva, 2015). Sin embargo, a pesar de los diferentes efectos negativos que inciden sobre las poblaciones del bocachico en esta cuenca, su comportamiento bimodal de migración le ha permitido mantener valores altos en el *He* (Orozco y Narváez, 2014).

Los microsatélites permitieron demostrar el estado de vulnerabilidad en que se encuentra la especie, dada la baja diversidad genética que exhibe su población. No se descarta la posibilidad de que esta baja diversidad sea resultado de la presencia de alelos nulos y otros artefactos técnicos y no por una causa biológica, lo anterior es importante ya que muestra la posibilidad de que estas poblaciones estén expuestas a que cualquier factor ambiental pueda propiciar su extinción (Kopas y Puentes, 2009). Un claro ejemplo de esto son las especies conocidas como la Dorada (*Brycon moorei*), el Bagre Rayado (*Pseudoplatystoma magdaleniatum* Buitrago-Suárez y Burr, 2007) y la Picuda (*Salminus affinis* Steindachner 1880) endémicas del Magdalena, cuyas poblaciones aguas arriba de la represa de Betania ya han desaparecido en su totalidad (Rodríguez, 2015).

## **6.2 Estructura genética y diferenciación poblacional**

Según Laikre *et al.*, 2005, los valores de variación genética de diferentes poblaciones reflejan la variabilidad genética total de una especie. Esta variación es vital, ya que permite la acción de los diferentes mecanismos adaptativos frente a los retos impuestos por el ambiente. Sin embargo, hay que resaltar que la distribución de la variación genética dentro de una población

no es homogénea, estructurándose en grupos de individuos similares genéticamente (Laikre et al., 2005). Lo anterior, es de suma importancia durante la aplicación de métodos genéticos para el manejo pesquero, ya que si una especie posee poblaciones diferenciadas, el manejo deberá ser ejercido de forma separada (Waples et al., 2008). Pues se estaría frente a diferentes unidades de manejo.

Los valores observados para el índice  $F_{st}$  global mostró que existe una moderada diferenciación genética en el área considerada ( $F_{st}= 0.065$ ), destacando la diferenciación existente entre la represa de Betania y todas las localidades consideradas en los análisis. El resultado proporcionado por el Análisis Molecular de Varianza (AMOVA), indicó que existe una estructuración en la población de *Prochilodus magdalenae* en diferentes escalas geográficas en las cuales se distribuye esta especie. Esta diferenciación, puede estar relacionada con diferentes factores entre los que podemos encontrar principalmente la fragmentación que genera la represa en la cuenca (Pelicice et al., 2014) y al efecto de los ríos tributarios de la cuenca del Magdalena, como sitios alternos para llevar a cabo el evento reproductivo. Autores como Carvalho-Costa et al. (2008), evidencia a través del uso de microsatélites, que no hay sub-estructuración en la población de *P. costatus* aguas abajo de la represa Tres Marias ubicada en el río Sao Francisco en Brasil. Sin embargo, Barroca et al. (2012a) muestran que hay una marcada sub-estructuración en la población de esta especie cuando se tienen en cuenta los individuos ubicados aguas arriba y abajo de la represa Gafanhoto, en el río Pará. Lo anterior demuestra que los peces que se encuentran aguas abajo de la represa, tienden a diferenciarse de los que se encuentran aguas arriba por falta de un flujo génico. Esto permite corroborar un efecto negativo de la construcción de represas sobre las especies de peces migratorios, por lo que se deben generar programas más efectivos que mitiguen estas problemáticas.

Es así como en el presente estudio, se muestra que la represa Betania ubicada en el río Magdalena, genera una estructuración de la población de *P. magdalenae* debido a la

incapacidad de los individuos para superar esta barrera y a la falta de estrategias que permitan la movilización de los individuos a través de la estructura (Carvalho-Costa *et al.*, 2008). Sin embargo, a pesar de lo anterior, los resultados aportados por el análisis bayesiano permitió observar la similitud existente entre la represa de Betania y Neiva, haciendo parte de la misma población (clúster Rojo; Figura 3). Lo anterior puede ser explicado bajo dos diferentes hipótesis: 1) Es probable que esta relación este determinada por eventos reproductivos que ocurren aguas arriba de la represa de Betania (Jiménez-Segura *et al.*, 2014) y eventualmente logren atravesar la represa evidenciado un flujo unidireccional de individuos (Pelicice *et al.*, 2014).

Sin embargo, es importante puntualizar que las nuevas condiciones hidrodinámicas de la represa, en donde los cambios fisicoquímicos y de la estructura de la comunidad favorecen el incremento de los depredadores en el sistema. Lo anteriormente mencionado estará determinando la veracidad esta hipótesis (Agostinho *et al.*, 2001). Sin embargo, autores como Pelicice *et al.* (2014), han logrado demostrar este hecho en otras cuencas en Suramérica. No obstante, es importante resaltar la baja frecuencia de la información genética de esta población (Clúster Rojo) en la cuenca del río Magdalena. Posteriores estudios podrán esclarecer este hecho. 2) Uno de los mecanismos utilizados para disminuir los impactos generados por las represas han sido los programas de repoblamiento de peces, donde cuidadosamente son transportados especímenes de importancia pesquera aguas arriba de la represa (Fundación Humedales, 2008). Dentro de estos especímenes está el bocachico, los cuales son provenientes de estaciones piscícolas cuyos reproductores son capturados en inmediaciones de la represa de Betania (antes de la represa) y liberados aguas arriba en la misma Carrillo-Avila *et al.*, (2014) *Com. Per.* El manejo inadecuado a los individuos que se incluyen en los programas de repoblamiento contribuyen de esta manera a la homogenización del acervo genético de una población (Guevara, 2015). Debido a lo anterior, en estas localidades comparten mucha información genética, que no esta determinada por mecanismos migratorios naturales.

Ahora bien, Sanches et al. (2012) en un estudio realizado en la represa Tres Marias en Brasil, encuentran que en la especie *Brycon orthotenia*, existe diferenciación genética obteniendo un estimado de dos poblaciones. Estos mismos autores, reportan que para la especie *P. argenteus* se obtuvo un estimado de una población no diferenciada genéticamente. En contraste, Barroca et al. (2012) en un estudio realizado en esta misma represa, sí encuentran diferenciación genética en *P. argenteus*, mostrando congruencia con los resultados obtenidos en el presente estudio.

Adicionalmente, Orozco y Narváez (2014) y Guevara (2015), encuentran que existe una moderada diferenciación genética para las especies de *P. magdalенаe* y *P. reticulatus* (sinónimo de *P. magdalенаe*) respectivamente. Esto sugiere la coexistencia de las poblaciones de Bocachico en la cuenca del río Magdalena (Orozco y Narváez, 2014). Dicha coexistencia, es mantenida por los dos picos reproductivos del bocachico, la cual sugiere que una gran parte de la población migra durante el primer pico reproductivo y en el segundo migran aquellos que no lo hicieron en el primero (Jiménez-Segura *et al.*, 2010; Orozco y Narváez, 2014). Por tanto Orozco y Narváez (2014) consideran que esta estructuración, es mantenida por eventos de “ondas reproductivas”, donde estos grupos genéticamente diferenciados desovan en los mismos lugares en tiempos diferentes (Jorgensen *et al.*, 2005). Se cree que este patrón reproductivo es común en muchas otras especies dentro de las cuencas (López-Casas *et al.*, 2016).

Es importante resaltar la homogeneidad genética existente en el río Saldaña, que resulta muy diferente de las otras localidades. Lo anterior puede ser evidencia de la afinidad que pueden tener los individuos a regresar a sitios particulares de la cuenca y realizar así su proceso reproductivo. Esta tendencia, ha sido reportada en otras especies tropicales que realizan largas migraciones como el bocachico (Pereira *et al.*, 2009; Guevara, 2015). Este tipo de comportamiento se ha observado también en *P. argenteus* usando herramientas como la

radio-telemetría (Godinho y Kynard, 2006), aunque éste no es exclusivo de peces dulceacuícolas, ya que también se ha documentado en especies marinas (Keeney *et al.*, 2005).

## 7. CONCLUSIÓN

La construcción de las represas en los sistemas hidrográficos del país, generan barreras ecológicas que no están debidamente reguladas. Es necesaria la implementación de tecnologías que mitiguen dichas problemáticas. Sin embargo, las que existen actualmente en el mundo, no están consideradas como efectivas y el transporte manual de los individuos no resulta ser el más adecuado.

- A pesar que los microsatélites utilizados no son específicos para *Prochilodus magdalenae*, estos fueron eficaces para identificar los niveles de variabilidad genética, evidenciando que esta variabilidad no es comparable con los niveles estimados para otras especies, resaltando el estado crítico de la población presente en el área muestreada.
- Fue posible la identificación de por lo menos tres poblaciones genéticas de *Prochilodus magdalenae*, donde se considera que la represa de Betania genera condiciones de fragmentación en las población de *P. magdalenae* contribuyendo de esta manera, en conjunto con otros factores, a la baja diversidad genética que comprende la especie.
- Los individuos recolectados en la represa de Betania y en la cuenca del río Saldaña presentaron una alta homogeneidad genética, convirtiéndolos en representantes de una sola unidad reproductiva.



- Finalmente, se considera que los estímulos para realizar el proceso migratorio podrían estar viéndose alterados como uno de los principales efectos de la construcción de la represa en las poblaciones aguas arriba.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Agostinho, A. A., A. Vazzoler, L. C. Gomes y E. K. Okada. 1993. Estratificación espacial y comportamiento de *Prochilodus scrofa* en distintas fases del ciclo de vida, en la planicie de inundación del alto del río Paraná y embalse de Itaipu, Paraná, Brasil. *Revista de Hydrobiología Tropical* 26 (1): 79-90.
- Agostinho, A. A., L. C. Gomes and M. Zalewski. 2001. The importance of floodplains for the dynamics of fish communities of the upper river Paraná. *Ecohydrology and Hydrobiology* 1 (1): 209-217.
- 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.
- Atencio, V. 2001. Producción de alevinos de especies nativas. *MVZ-Córdoba* 6 (1): 9-14.
- Barroca, T. M., F. P. Arantes, B. F. Magalhaes, F. F. Siqueira, C. C. Horta, I. F. Pena, J. A. Dergam and E. Kalapothakis. 2012a. Genetic diversity and population structure of *Prochilodus costatus* and *Prochilodus argenteus* preceding dam construction in the Paraopeba River, São Francisco River Basin, Minas Gerais, Brazil. *Open Journal Genetics* 2: 121-130.
- Barroca, T. M., G. B. Santos, N. V. Duarte and E. Kalapothakis. 2012b. Evaluation of genetic diversity and population structure in a commercially important freshwater fish

- Prochilodus costatus* (Characiformes, Prochilodontidae) using complex hypervariable repeats. *Genetics and Molecular Research* 1: 1 - 12.
- Bustamante R. y A.A. Grez. 1995. Consecuencias ecológicas de la fragmentación de Bosques Nativos. *Ambiente y Desarrollo*. 11(2):58-63.
- Carrillo-Avila, M., L. Espinosa-León, W. Cruz-Flor y Y. Perdomo-Aguirre. 2014. Caracterización genética de *Ichthyoelephas longirostris* de los ríos La Miel y Ranchería usando marcadores microsatelites. *Orinoquía*. 18(2):1-10
- Carvalho-Costa, L. F., T. Hatanaka and P. M. Galetti. 2008. Evidence of lack of population substructuring in the Brazilian freshwater fish *Prochilodus costatus*. *Genetics and Molecular Biology*. 31 (1): 377-380.
- Cortés, G. A. 2003. Guía para el manejo, cría y conservación del Bocachico *Prochilodus magdalenae* Steindachner. Convenio Andrés Bello. Bogotá D. C., 42 pp.
- Dantas, H. 2010. Avaliação da estrutura genética do surubim, *Pseudoplatystoma corruscans* (Actinopterygii, Siluriformes) como subsidio para o repovoamento do submédio São Francisco. Masters Thesis Universidade Federal Rural do Pernambuco. Recife, Brazil.
- Earl, D. and B. vonHoldt. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics* 4 (2): 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 and J. Goudet. 2005. Detecting the number of cluster of individuals using the software Structure: A simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611-2620.
- Fundación Humedales. 2008. Evaluación pesquera y repoblamiento en el embalse de Betania: Fundación Humedales, Informe final de contrato para EGEMSA S.A; 156 p.

- Galzerani, F. 2007. Análise da variabilidade genética de *Prochilodus argenteus* (Pisces, Prochilodontidae) do rio São Francisco, região de Três Marias, através de marcadores microsátélites. Monography, Dept. Genetics and Evolution, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brazil.
- Garcia De Leon, F. Chikhi, L. and Bonhomme, F. 1997. Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural populations of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linneo 1758). *Molecular Ecology*. 6:51-62.
- Godinho, A. L. y B. Kynard. 2006. Migration and spawning of radio-tagged zulega *Prochilodus argenteus* in a dammed Brazilian River. *Transactions of the American Fisheries Society* 135: 811-824.
- Goudet, J. 1995. FSTAT: A program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3).
- Guevara, L. 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. Trabajo de Grado. Universidad Francisco de Paula Santander, Facultad de Ciencias Agrarias del Ambiente, Zootecnia. Ocaña, 69 pp.
- Guo, S. W. and E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple aleles. *Biometrics* 48: 361-372.
- Hatanaka T and Jr. P.M. Galetti. 2003. RAPD markers indicate the occurrence of structured populations in a migratory freshwater fish species. *Genetics Molecular Biology* 26:19-25.
- Hatanaka, T., F. Silva and P. Galetti. 2006. Population substructuring in a migratory freshwater fish *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the São Francisco River. *Genetica* 126:153-159.
- Hedrick, P. W. 2011. *Genetics of Populations*. (p. 278). Arizona: Jones and Bartlett Publishers.

- Heggenes and Roed. 2006. Do dams increase genetic diversity in brown trout *Salmo trutta*? Microgeographic differentiation in a fragmented river. *Ecology Freshwater Fish*. 15(4): 366-375.
- Hernandez, C. A. 2011. Análisis ambiental de las grandes centrales hidroeléctricas de Colombia aplicando metodología multiobjetivo. Trabajo de grado. Universidad de La Salle, Facultad de Ingeniería, Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Bogotá D.C. 128 pp.
- Hubbs, C., and J. Pigg. 1976. The effects of impoundments on threatened fishes of Oklahoma. *The annuals of the Oklahoma academy of science*, 5(133-77), 155.
- Hubisz, M. J., D. Falush, M. Stephens and J. K. Pritchard. 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resource* 9: 1322-1332.
- Hurtado-Alarcón J.C., N.J. Mancera-Rodríguez y C.I. Saldamando-Benjumea. 2011. Variabilidad genética de *Brycon henni* (Characiformes: Characidae) en la cuenca media de los ríos Nare y Guatapé, sistema Río Magdalena, Colombia. *Revista de Biología Tropical*. 59(1):269-282.
- IDEAM - Cormagdalena. 2001. Estudio ambiental de la Cuenca Magdalena-Cauca y elementos para su ordenamiento territorial. Informe técnico. Acuerdo IDEAM - Cormagdalena convenio 003 de 1999. Bogotá, D.C. 235 pp.
- Instituto Alexander von Humboldt IAVH. 2002. Sistema de indicadores de seguimiento de la política de Biodiversidad, Unidad de Sistemas de Información Geográfica SIG. Bogotá. 5p.
- Jarne, P. and P.J.L. Lagoda. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol Evol*, 11: 424-429.
- Jiménez-Segura, L. F., J. Palacio and R. Leite. 2010. River flooding and reproduction of migratory fish species in the Magdalena river basin, Colombia. *Ecology of Freshwater Fish* 19: 178-186.

- Jiménez-Segura, L. F., D. Restrepo-Santamaría, S. López-Casas, J. Delgado, M. Valderrama, J. Álvarez y D. Gómez. 2014. Ictiofauna y desarrollo del sector hidroeléctrico en la cuenca del río Magdalena-Cauca, Colombia. *Biota Colombiana* 15 (2): 3 - 25.
- Jorgensen, H. B., M. M. Hansen, D. Bekkevold, D. Ruzzante y V. Loeschcke. 2005. Marine landscapes and population genetic structure of herring (*Clupeaharengus* L.) in the Baltic Sea. *Molecular Ecology* 14: 3219-3234.
- Keeney, D. B., M. R. Heupel, R. E. Hueter y E. J. Heist. 2005. Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of the genetic structure of blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*) nurseries in the northwestern Atlantic, Gulf of Mexico, and Caribbean Sea. *Molecular Ecology* 14: 1911-1923.
- Kirsti, M et al., 2005. Power of microsatellite markers for fingerprinting and parentage analysis in *Eucalyptus grandis* breeding population. *Journal of Heredity*. 96:2, p 161-166.
- Kopas J. y A. Puentes. 2009. Grandes represas en América ¿Peor el remedio que la enfermedad?. Informe Técnico. Asociación Interamericana para la Defensa del Medio Ambiente AIDA. Oakland, 111 pp.
- Laikre, L., S. Palm and N., Ryman. 2005. Genetic population structure of fishes: implications for coastal zone management. *Ambio* 34: 111-119
- Lasso, C. A., F. D. Gutierrez, M. A. Morales-Betancourt, E. Agudelo, H. Ramírez-Gil y E. Ajiaco-Martínez. 2011. II. Pesquerías continentales de Colombia: cuencas del Magdalena-Cauca, Sinú, Canalete, Atrato, Orioco, Amazonas y vertiente del Pacífico. Serie Editorial Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros Continentales de Colombia. Instituto de Investigación de los recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Bogotá, D.C., 156 pp.

- López-Casas, S., L. F. Jiménez-Segura, A. A. Agostinho y C. M. Pérez. 2016. Potamodromous migrations in the Magdalena River basin: bimodal reproductive patterns in neotropical rivers. *Journal of Fish Biology* 1-15.
- Luikart, G. and J. Cornuet. 1998. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *12(1):228-237*.
- Maldonado-Ocampo, J. A., A. Ortega-Lara, J. S. Usma, G. Galvis, F. A. Villa-Navarro, L. Vásquez, S. Prada-Pedreiros y 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.
- Mojica, J. I., J. S. Usma, R. Álvarez-León y 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.
- Neraas L. and P. Spruelli. 2001. Fragmentation of riverine systems: the genetic effects of dams on bull trout (*Salvelinus confluentus*) in the Clark Fork River system. *Molecular Ecology*. 10(5):1153-1164.
- O'connell M. and Wright, J. 1997. Microsatellite DNA in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 7(1): 331–363.
- Oliveira, C., F. Foresti, and A. Hilsdorf. 2009. Genetics of neotropical fish: From chromosomes to populations. *Fish Physiology Biochemistry*. 35:81-100.
- Orozco, G. and 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* 37 (1): 37-45.

- Panarari, R. 2006. Variabilidade genética, evidenciada por marcadores nucleares e do genoma mitocondrial, de espécies do genero *Brycon* (Characiformes: characidae) de tres bacias hidrográficas. Tesis de Doctorado. Curso de ecologías de ambientes. Universidad estadual de Maringá.
- 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. and P. Smouse. 2006. GenAlex6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Resources* (6): 288-295.
- Pelicice, F. M., P. S. Pompeu and A. A. Agostinho. 2014. Large reservoirs as ecological barriers to downstream movements of Neotropical migratory fish. *Fish and Fisheries* 1-19.
- Pereira, L. H., F. Foresti y C. Oliveira. 2009. Genetic structure of the migratory catfish *Pseudoplatistoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) suggest homing behaviour. *Ecology of Freshwater Fish* 18: 215-225.
- Pompeu, P., L. F. Mascarenhas and C. Barreira. 2009. Evaluation of the effects of pressure gradients on four brazilianfreshwater fish species. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52 (1): 111-118.
- Povh, J. A., N. M. Lopera, R. P. Ribeiro, E. J. Lupchinski, P. C. Gomes y T. S. Lopes. 2008. Monitoreo genético en programas de repoblamiento de peces mediante marcadores moleculares. *Ciencia e investigación agraria* 35 (1): 5-15.
- Ramírez, A. y G. Pinilla. 2012. Hábitos alimentarios, morfometría y estados gonadales de cinco especies de peces en diferentes períodos cilmáticos en el río Sogamoso (Santander, Colombia). *ActaBiológica Colombiana* 17 (2): 241-258.
- Raymond, M. and F. Rousset. 1995. Testing Heterozygote excess and deficiency. *Genetics* 140: 1413-1419.

- Rodríguez, M. 2015. ¿Para dónde va el río Magdalena? Riesgos sociales, ambientales y económicos del proyecto de navegabilidad. Friedich-Ebert-Stifungen Colombia (Fescol). Bogotá D.C., 314 pp.
- Rueda, E., J. Sommer, P. Scarabotti, R. Markariani and G. Ortí. 2011. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the migratory freshwater fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes: Prochilodontidae). Conservation Genetics Resource 3 (4): 681-684.
- Sanches A and Jr. P.M. Galetti. 2006. Microsatellites loci isolated in the freshwater fish *Brycon hilarii*. Molecular Ecology Notes 6:1045-1046.
- Sanches, A. 2007. Estrutura genética populacional de *Brycon hilarii* na sub-bacia do Rio Miranda, e seu significado para programas de conservação. Doctoral Thesis, UFSCar, São Carlos, Brazil
- Sanches, A., P. Galetti, F. Galzerani, J. Derazo, B. Cutilak-Bianchi and T. Hatakana. 2012. Genetic population structure of two migratory freshwater fish species (*Brycon orthotaenia* and *Prochilodus argenteus*) from the Sao Francisco River in Brazil and its significance for conservation. Latin American Journal of Aquatic Research 40 (1): 177-186.
- Santacruz-Beltrán, D. 2003. Evaluación de la variabilidad genética con marcadores microsatelites del bocachico *Prochilodus magdalenae* (Steindachner 1878) en el Río Sinú, Colombia. Tesis de Grado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 126 p.
- Schlötterer C and Pemberton J. 1994. The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations. In: Schierwater B, Streit B, Wagner GP, DeSalle R (eds) Molecular Ecology and Evolution: Approaches and Applications. Birkhäuser Verlag: Basel, Boston, Berlin, pp 203–214.
- Schneider, S., D. Roessli and 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.



- 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.
- 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.
- Sunnucks P., 2000. Efficient genetic markers for population biology. Trends in Ecology and Evolution 15 (5): 199-203.
- Tautz and Schlötterer. 1994. Simple Sequences; Curr. Op. Gent. Dev., 4, 832-837.
- Van Oosterhout, C., W. F. Hutchinson, D.P. Wills and P. Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes 4: 535-538.
- Vrijenhoek, R. 1998. Conservation genetics of freshwater fish. Journal of Fish Biology. 53: 394-412.
- Wagner, R. L., S. Makrakis, T. Castro-Santos, M. Cavicchioli, J. Pinheiro and R. Fuster. 2012. Passage performance of long-distance upstream migrants at a large dam on the Paraná River and the compounding effects of entry and ascent. Neotropical Ichthyology 785-795.
- Waples, R., R. Zabel, M. Scheuerell and B. Sanderson. 2008. Evolutionary responses by native species to major anthropogenic changes to their ecosystems: Pacific salmon in the Columbia River hydropower system. Molecular Ecology. 17:84–96.
- Wasko, A, C. Martins, C. Oliveira, J.A. Senhorini, and F. Foresti. 2004. Genetic monitoring of the Amazonian fish matrinhã (*Brycon cephalus*) using RAPD markers: insights into supportive breeding and conservation programmes. J. Appl. Ichthyol., vol. 20, no. 1, p. 48-52.

- Weir, B., and C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38 (6): 1358-1370.
- Wofford, E., R.E. Gresswell, M.A. Banks. 2005. Influence of barriers to movement on within-watershed genetic variation of coastal cutthroat trout. *Ecological Applications*. 15(2):628-637.
- Wright, E. 1978. *Evolution and Genetics of Population, Vol. 2: The theory of gene frequencies*. Press, London: University of Chicago.
- Xu, Y., Y. Liu, N. Ridgway and C. McMaster. 2001. Novel members of the human oxysterol-binding protein family bind phospholipids and regulate vesicle transport. *The Journal of Biological Chemistry*. 276(21):18407-18414.

## 9. ANEXOS

### PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE LA ALETA CAUDAL

1. En un tubo ependorf de 1.5µl previamente esterilizado adicionar aproximadamente 0.1-0.5cm<sup>2</sup> de aleta caudal.
2. Adicionar 300µl de solución lisis y 1µl de proteínasa K.
3. Incubar a 65°C por lo menos durante 1 hora.
4. Agitar el tubo con vortex durante 5 minutos.
5. Adicionar 300µl de NaCl [5M] y agitar vigorosamente con el vortex durante 10 segundos.
6. Centrifugar a 15.000 rpm. durante 15 minutos con el propósito de separar el ADN de las proteínas y otros residuos.
7. Transferir 450µl del sobrenadante obtenido a un tubo nuevo previamente esterilizado. Esta solución contendrá el ADN extraído, el otro tubo con los residuos de proteínas será descartado.
8. Adicionar 600µl de alcohol etílico absoluto y agitar por inversión 30-40 veces.
9. Incubar por lo menos durante 1 hora a -20°C.
10. Centrifugar a 14.000 rpm. durante 10 minutos para la precipitación del ADN.
11. Retirar el alcohol etílico absoluto cuidadosamente sin agitar el tubo. Este paso puede hacerse por decantación o con la ayuda de una micropipeta.
12. Adicionar 500µl de alcohol etílico al 70% para limpiar el ADN precipitado y centrifugar a 10.000 rpm. durante 2 minutos para ayudar a limpiar bien el tubo.
13. Retirar el alcohol etílico al 70% cuidadosamente. Este paso puede hacerse por decantación o con la ayuda de una micropipeta.

14. Dejar secar el tubo completamente.
15. Agregar 45µl de solución TE buffer para resuspender el ADN.
16. Adicionar 1µl de RNAsa e incubar a 37°C durante 30 minutos.
17. Almacenar el ADN extraído a una temperatura de -20°C.