

# GENETIC CHARACTERIZATION THE STOCKS OF *Prochilodus magdalenae* (PISCES: PROCHILODONTIDAE) USED IN STOCKING PROGRAMS IN COLOMBIA



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

de la Rosa J., Fontalvo P.P., Orozco–Berdugo G., Narváez–Barandica J.C.

Grupo de investigación de  
Biodiversidad y Ecología Aplicada  
(GIBEA), Universidad del  
Magdalena, Santa Marta, Colombia.

Corresponding author:  
Paulin P. Fontalvo  
paupol001@gmail.com

 ORCID 0000-0002-5860-3328

### ABSTRACT

*Prochilodus magdalenae* is an endemic fish species of Colombia known as an important resource of commercial interest for many communities related to fishing activities as a livelihood activity. However, population deterioration has been observed in natural environments due to factors such as overfishing, fragmentation of ecosystems, among others. This makes it necessary to characterize the genetic diversity of *P. magdalenae* in the productive systems of some fish farms, which are used to restocking in other basins of Colombia and, thus, to propose technical and scientific criteria that allow the development of management strategies for the conservation of this species. Therefore, in 2013, caudal fin tissue was collected from 1044 individuals in seven fish farms, which were processed in the laboratory. Through the use of seven microsatellites, genetic metrics such as: observed and expected heterozygosity, number of alleles, fixation indexes, F statistics, Bayesian grouping and AMOVA were evaluated. We observed low heterozygosity, correlated with inbreeding processes, which contrast with the high values obtained in the expected heterozygosity index and the number of alleles detected in *P. magdalenae* productive systems. A moderate genetic differentiation between fish centers was detected and the existence of three genetic groups was observed through the Bayesian analysis. Despite the low diversity reported regarding the others species of the same genus, populations held in Bocachico captivity have the potential to restore the diversity of wild populations. Therefore, it is suggested that each fish station should establish batches of breeders separately, based on their genetic information so that there is congruence between the released individuals and those that inhabit the natural environment.

**Key words:** Bocachico; Reophilic fish; Magdalena Basin; Genetic structure; Fish farms.

### RESUMEN

*Prochilodus magdalenae* es una especie de pez endémico de Colombia conocido por ser un importante recurso de interés comercial y para muchas comunidades relacionadas a las actividades pesqueras como actividad de sustento. No obstante, se ha observado un deterioro poblacional en ambientes naturales debido a factores tales como sobrepesca, fragmentación de ecosistemas, entre otros. Esto hace necesario caracterizar la diversidad genética de *P. magdalenae* en los sistemas reproductores de algunos centros piscícolas, que son usados para hacer repoblamientos en otras cuencas de Colombia y así proponer criterios técnicos y científicos que permitan el desarrollo de estrategias de manejo para la conservación de esta especie. Por lo anterior, en el año 2013 se recolectó tejido de aleta caudal de 1044 individuos en siete centros piscícolas, que fueron procesados en laboratorio y a través del uso de siete *loci* de microsatélites se evaluaron métricas genéticas tales como: heterocigosidad observada y esperada, número de alelos, índices de fijación, estadísticos F, agrupamiento bayesiano y AMOVA. Se encontró baja heterocigosidad observada, correlacionada con procesos de endogamia, que contrastan con los altos valores obtenidos en el índice de heterocigosidad esperada y la cantidad de alelos detectados en los sistemas de reproductores de *P. magdalenae*. Se detectó una moderada diferenciación genética entre centros piscícolas y se observó la existencia de tres grupos genéticos a través del agrupamiento bayesiano. Pese a la baja diversidad reportada con respecto a otras especies del mismo género, las poblaciones mantenidas en cautiverio de Bocachico tienen potencial para restaurar la diversidad de las poblaciones silvestres. Por lo que se sugiere que cada estación piscícola debe establecer lotes de reproductores por separado, en función de su información genética para que exista una congruencia entre los individuos liberados y aquellos que habitan en el medio natural.

**Palabras clave:** Bocachico; Peces Reofílicos; Cuenca del Magdalena; Estructura genética; Estaciones piscícolas.

### Cite this article as:

de la Rosa J., Fontalvo P.P., Orozco–Berdugo G., Narváez–Barandica J.C. 2020. CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE REPRODUCTORES DE *Prochilodus magdalenae* (PISCES: PROCHILODONTIDAE) USADOS EN PROGRAMAS DE REPOBLAMIENTO EN COLOMBIA. BAG. Journal of Basic and Applied Genetics XXXI (1): 53–63.

Received: 12/05/2019

Revised version received: 02/28/2020

Accepted: 03/30/2020

General Editor: Elsa Camadro

DOI: 10.35407/bag.2020.31.01.06

ISSN online version: 1852–6233

Available online at  
[www.sag.org.ar/jbag](http://www.sag.org.ar/jbag)

## INTRODUCCIÓN

Colombia se reconoce como uno de los países con mayor abundancia en recursos hídricos en América (IDEAM, 2014). Es así como esta ventaja ecológica representa un importante núcleo tanto económico, como cultural y biológico, dada la diversidad de especies que albergan los diferentes cuerpos de agua (Jiménez-Segura *et al.*, 2010). Dentro del grupo de especies de peces que habitan en las principales cuencas hidrográficas del país, se destaca la presencia de *Prochilodus magdalenae* Steindachner, 1879, conocida como Bocachico (Maldonado Ocampo *et al.*, 2005). Esta especie es endémica de los ríos Atrato, Magdalena y Sinú (Mojica *et al.*, 2012) y es importante no sólo por su rol ecológico dentro del ecosistema, sino también por representar un valioso ingreso económico para las comunidades ribereñas asociadas a la pesca como actividad de sustento.

Esta especie ha sido catalogada en estado de amenaza debido a factores tales como la sobreexplotación de recursos, disminución de la calidad del agua y/o fragmentación de hábitat (Mojica *et al.*, 2012). Problemáticas que se hacen más visibles cuando se analiza la situación de su pesquería, ya que los datos de desembarcos pesqueros han mostrado una tendencia decreciente, teniendo en cuenta que en el año de 1992 se capturaron 24870 toneladas (CCI, 2006) y en 2016 su captura no sobrepasó las 2000 toneladas (SEPEC, 2016). Cabe resaltar que menos del 50% de los individuos capturados no alcanza la maduración, ya que la pesca se hace más intensa durante su época de migración reproductiva (CCI, 2006; Martínez *et al.*, 2006). Estos factores han alterado los procesos biológicos y ecológicos de la especie a tal punto que, para mitigar el impacto sobre las poblaciones de *P. magdalenae* en la cuenca del Magdalena, se han implementado medidas tradicionales como la veda, prohibición de artes de pesca, tallas reglamentarias y los repoblamientos (Machordom *et al.*, 1999). Esta última medida busca minimizar el riesgo de extinción de la especie mediante: *i*) preservación del acervo genético hasta que se puedan aliviar los factores que limitan su supervivencia en medio natural; *ii*) incremento de la biomasa; y *iii*) trasladar individuos entre hábitats para la recuperación de las poblaciones frente a extinciones locales (Waples y Drake, 2004).

No obstante, las medidas implementadas no han sido suficientes y los programas de repoblamiento para la conservación de esta especie han tenido poco éxito. Estudios genéticos a nivel poblacional en el Bocachico han mostrado que la especie presenta un rango en el índice de heterocigosidad observada ( $H_o$ ) entre 0,08 y 0,27 (Guevara Rincón, 2014; Orozco y Narváez, 2014; Fontalvo *et al.*, 2018). Estos datos resultan ser bajos para *P. magdalenae* cuando se comparan con la variabilidad reportada en otras especies del mismo género, endémicas de Brasil como: *Prochilodus argenteus* Spix & Agassiz,

1829, que presenta un  $H_o$  de 0,56 (Galzerani, 2007) o *Prochilodus costatus* Valenciennes, 1850, cuyos valores de  $H_o$  oscilan entre 0,45 y 0,56 (Carvalho Costa *et al.*, 2008; Silva, 2011). Resultados que han sido producto de la implementación de tecnologías como las escaleras de pasos para peces, o programas de repoblamientos con base en criterios genéticos para el adecuado manejo del recurso pesquero en Brasil (Hatanaka *et al.*, 2006; Carvalho Costa *et al.*, 2008). Este contexto muestra que la baja diversidad genética observada en las poblaciones de *P. magdalenae*, también puede estar asociada al manejo inadecuado de individuos en los programas de repoblamiento que se desarrollan en los ríos Magdalena y Cauca, entre otros (Guevara Rincón, 2014; Fontalvo *et al.*, 2018). Lo anterior subyace en que los repoblamientos en Colombia no están debidamente regulados ya que se desconocen los parámetros técnicos y científicos que permitan implementar una metodología efectiva (Arrieta Echeverry, 2013). De acuerdo a Povh *et al.* (2008), la introducción descontrolada de peces en medio natural de forma inadecuada y sin criterio técnico, produce una disminución de la variabilidad genética provocando una erosión a nivel molecular en las poblaciones naturales receptoras. Adicionalmente, la traslocación arbitraria entre cuencas fomenta el rompimiento de la integridad genética de los grupos y desmejora el acervo que manejan los centros piscícolas que se encargan de los repoblamientos. Esto genera que se disminuya el tamaño efectivo poblacional de reproductores utilizados para diferentes actividades piscícolas (Machordom *et al.*, 1999). Por ello, es imprescindible implementar las estrategias necesarias para el manejo reproductivo, biológico y ambiental, que son esenciales para que los programas de reintroducción sean exitosos y restauren las poblaciones impactadas por las modificaciones ambientales.

Para que un proceso de repoblamiento sea exitoso es necesario contar con información genética proveniente de poblaciones en medio natural y de aquellas mantenidas en cautividad, que son usadas para ejecutar dichos programas en el Bocachico. Para lograr este objetivo, los marcadores moleculares más utilizados a la actualidad son los microsatélites. Estas herramientas moleculares permiten obtener información precisa de la diversidad y estructura genética de poblaciones de peces, dada su naturaleza neutral y codominante (Abdul Muneer, 2014; Aung *et al.*, 2010; Fontalvo *et al.*, 2018; Lopera-Barrero *et al.*, 2010; Orozco y Narváez, 2014; Petersen *et al.*, 2012; Povh *et al.*, 2011). Es así como a través de los microsatélites se busca analizar el estado de la diversidad y estructura genética de *P. magdalenae* en siete centros piscícolas pertenecientes a diferentes cuencas hidrográficas de Colombia. De esta manera, se espera proponer criterios técnicos para desarrollar estrategias efectivas de manejo, como aporte significativo para la conservación de los recursos ícticos en Colombia, siendo el Bocachico

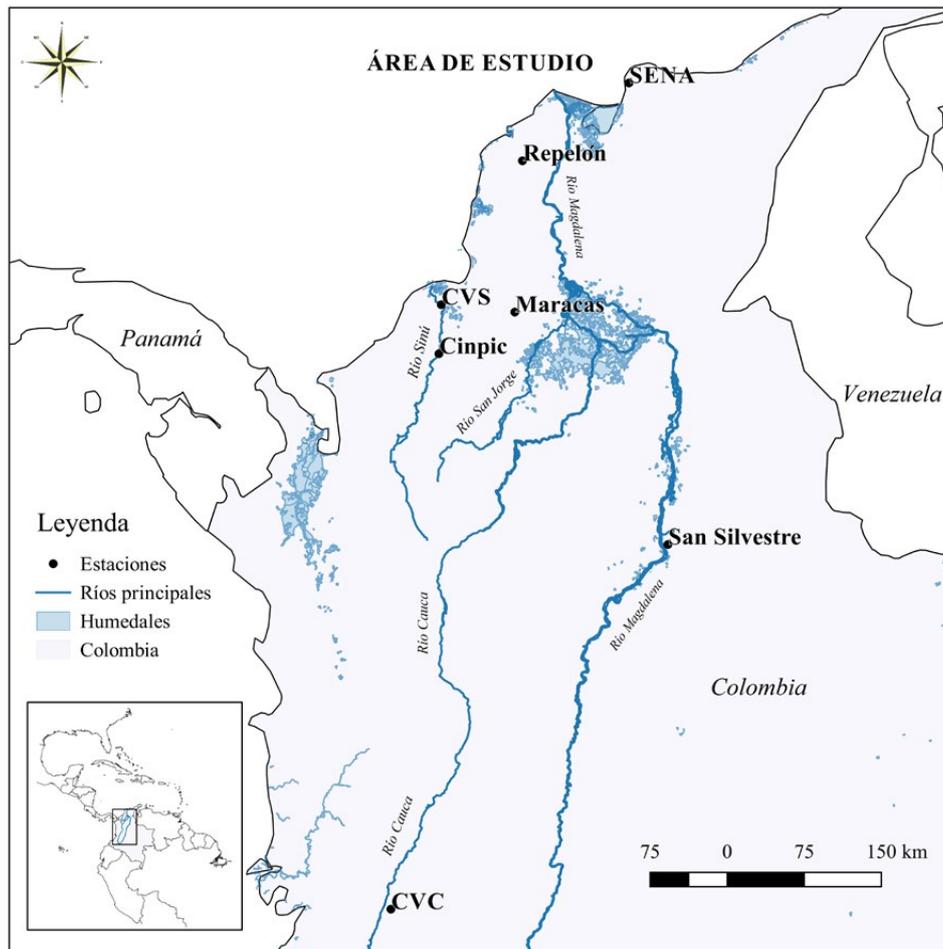


Figura 1. Ubicación de las estaciones piscícolas donde se realizó el muestreo en Colombia.

un modelo de referencia para otras especies de peces reofílicos en peligro de extinción.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio y colección de muestras

La recolección de muestras se llevó a cabo durante el año 2013 en siete centros piscícolas de Colombia, los cuales se encargan de mantener en cautividad reproductores de Bocachico. Se recolectaron en total 1044 individuos distribuidos en cada centro piscícola de la siguiente manera: 43 individuos provenientes del río San Jorge en la Estación Piscícola de Maracas (Maracas); 380 individuos provenientes del río Magdalena en el Centro Agroindustrial (Sena); 447 individuos provenientes del río Magdalena en la Estación Piscícola de Repelón (Repelón); 24 individuos provenientes del río Magdalena en la Estación Piscícola de San Silvestre (San Silvestre); 39 individuos provenientes del río Cauca en la Estación Piscícola de la Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca (CVC); 54 individuos provenientes del río Sinú en la Estación Piscícola de la Corporación Autónoma Regional de los Valles del Sinú y del San Jorge (CVS);

y finalmente en el Centro de Investigación Piscícola CINPIC (CINPIC) se recolectó tejido de 57 individuos provenientes del río Sinú (Figura 1). En cada una de las estaciones se tomaron muestras de tejido de la aleta caudal, y se fijaron en etanol al 96 % para su posterior análisis en laboratorio.

### Fase de laboratorio

El ADN genómico se obtuvo siguiendo el protocolo del kit MasterPure™ (Epicentre Biotechnologies®). Se comprobó la presencia de ADN mediante electroforesis en gel de agarosa al 0,8 %, en una corrida a 80 voltios durante 30 minutos y las muestras fueron teñidas con GelRed® (Biotium). Siete loci de microsatélites (Tabla 1) diseñados previamente para la especie *Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1837 (Rueda *et al.*, 2011), fueron utilizados mediante amplificación cruzada en *P. magdalenae* para obtener los genotipos. El proceso de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó siguiendo la metodología de Rueda *et al.* (2011) y Orozco y Narváez (2014). El volumen final utilizado para la reacción de PCR fue de 10 µl, el cual contenía 0,25 U de *Taq* polimerasa, 0,2 µM de cada cebador, 200 µM de dNTPs,

**Tabla 1.** Descripción de microsatélites publicados por Rueda *et al.* (2011) y resultados generales obtenidos por *locus* en *P. magdalenae* en el presente trabajo.

Locus	Motivo de repetición	Secuencia del primer	T (°C)	N <sub>A</sub>	R <sub>A</sub>	Rango de tamaños alélicos en pb
PL3	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'-TCTGAGCTGTGAGGAATGGA-3' R: 5'-AGAGCGCTCAAGCACAAGAT-3'	50	17	9,619	179-211
PL14	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'-TGCCCAACACTGAAACTGAG-3' R: 5'-CTCATCAACCTGCCTGGAAT-3'	61	22	12,970	102-146
PL23	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'-TTGGCTACTTCCCCAAACAC-3' R: 5'-GGGGAACCTAGTTTGACGATGC-3'	59	18	10,409	214-248
PL28	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'-GAAGCTTGGGCTCTTGACAT-3' R: 5'-CGTTTGCCTCTAGCCTTTTG-3'	59	24	9,173	217-259
PL34	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'-GAGCGGATTCTCCACATGAT-3' R: 5'-TAATGTGCTCCCTCCCACAG-3'	56	18	8,933	180-210
PL64	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'-AGAGCAACACAGGGAGGAGT-3' R: 5'-ACGCTCTGCTCAGCCATACT-3'	62	16	9,208	152-190
PL119	(CA) <sub>n</sub>	F: 5'-GAAAAAGGCTAGGGGACTGG-3' R: 5'-GAGGAAAATTGCCTTTTGTAGG-3'	58	27	14,530	151-203

F: Cebador directo; R: Cebador reverso; T (°C): Temperatura de anillamiento utilizada para amplificar los *loci* en el presente trabajo; N<sub>A</sub>: Número de alelos; R<sub>A</sub>: Riqueza alélica calculada mediante rarefacción con el programa FSTAT (Goudet, 1995)

2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 X de reacción buffer y 100 ng de ADN previamente cuantificados mediante espectroscopia de fluorescencia (*Qubit Fluorometric Quantitation*). Los ciclos utilizados para las condiciones de PCR fueron las siguientes: 5 minutos a 95°C, 30 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s para la temperatura de anillamiento (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 SizeMarker 50-800 bp v2.0 QIAGEN), para obtener el tamaño de cada producto de la amplificación. Estos tamaños fueron detectados mediante el uso del programa ScreenGel QIAxcel v1.0 QIAGEN, que a su vez permitió cuantificar el peso de cada alelo y de esta manera el genotipo de cada individuo.

#### Análisis de datos para diversidad genética

A partir de la matriz de datos con el genotipo de cada individuo, se generaron los archivos de entrada utilizados en los análisis posteriores mediante el uso del programa MSTOOLS (Park, 2001). Para detectar la presencia de alelos nulos o de posibles errores en la genotipificación se usó el programa MICRO-CHECKER (Van Oosterhout *et al.*, 2004). El desequilibrio de ligamiento por pares de *loci* y por estación piscícola, fue comprobado usando

pruebas exactas de MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*) con 10000 *batches*/1000 iteraciones (Guo y Thompson, 1992) con el programa GENEPOP (Rousset, 2008). Se utilizó la prueba exacta de Fisher para calcular el equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) por *locus* y por estación piscícola, considerando la unión aleatoria de gametos como hipótesis nula (Guo y Thompson, 1992) con el programa GENEPOP (Rousset, 2008).

A nivel de *locus* se estimaron los índices de número de alelos (N<sub>A</sub>) y rango de tamaños alélicos en pares de bases (pb) con el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2006), mientras que el índice de riqueza alélica (R<sub>A</sub>) fue calculada mediante el método de rarefacción que ofrece el programa FSTAT (Goudet, 1995). Por otro lado, a nivel poblacional en cada una de las estaciones piscícolas se estimaron los índices de diversidad correspondientes a: promedio de número de alelos (N<sub>a</sub>), promedio de número efectivo de alelos (n<sub>e</sub>), heterocigosidad observada (H<sub>o</sub>) y heterocigosidad esperada (H<sub>e</sub>) con el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2006). El coeficiente de endogamia (F<sub>IS</sub>) en cada estación fue calculado con el programa FSTAT (Goudet, 1995).

#### Análisis de datos para estructura genética

Para estimar los valores de estructura genética entre pares de poblaciones se usó el estadístico G''<sub>ST</sub> de Hedrick (Meirmans y Hedrick, 2011) con el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2006). Para verificar la existencia de poblaciones diferenciadas genéticamente de *P. magdalenae* entre cuencas fluviales, se realizó un

análisis molecular de varianza (AMOVA) con el programa ARLEQUÍN 3.5 (Excoffier *et al.*, 2005). Con esta prueba se analizó la distribución de la variabilidad genética considerando el lote de reproductores de cada centro piscícola y la cuenca hidrográfica a la que pertenece. Por esta razón, 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.

Teniendo en cuenta que el patrón migratorio de *P. magdalenae* puede implicar flujo genético entre las diferentes cuencas, es posible que esto se vea reflejado en la información genética de los reproductores de cada centro piscícola. Por ello, se realizó un análisis de agrupamiento bayesiano con el programa STRUCTURE 2.3.3 (Hubisz *et al.*, 2009), el cual permitió identificar la presencia de grupos genéticos entre las estaciones piscícolas estudiadas. En este sentido, el número de subpoblaciones  $K$  se estimó considerando 20 corridas independientes de  $K = 1 - 10$ , que fueron llevadas a cabo con 500000 repeticiones de MCMC y 150000 periodos de *burn-in* usando la ubicación de muestreo como *prior* de información, frecuencias de alelos correlacionados y mezcla. Estos parámetros fueron seleccionados ya que el modelo de mezcla asume la probabilidad de que un individuo pueda heredar una fracción del genoma de un antepasado en una población  $K$ , y la frecuencia de alelos correlacionados permite simular que diferentes poblaciones pueden tener frecuencias alélicas similares (Falush *et al.*, 2003). Teniendo en cuenta la presencia de alelos nulos previamente reportados por el programa MICRO-CHECKER, se utilizó la opción RECESSIVEALLELES que le permite suponer al programa que el alelo recesivo no puede ser observado en estado homocigoto, aunque podría estar presente (Rico *et al.*, 2017).

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 y VonHoldt, 2012) y fue resumido y graficado con el programa Clumpak (Kopelman *et al.*, 2015).

## RESULTADOS

### Diversidad genética

Todos los *loci* evaluados fueron 100% polimórficos para *P. magdalenae* en los diferentes centros piscícolas estudiados. Todas las poblaciones presentaron desviaciones en el equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) para todos los *loci* ( $p < 0,01$ ). Estas desviaciones se dieron por causa del déficit de heterocigotos observados y la identificación de alelos nulos en todos los *loci* por el

programa MICRO-CHECKER, que se refleja en los valores positivos registrados en el índice  $F_{IS}$  (Tabla 2). Un total de 142 alelos fueron reportados en las poblaciones evaluadas, siendo el *locus* PL119 el que registró mayor número de alelos con 27, mientras que el *locus* PL64 sólo detectó 16 (Tabla 1). La mayor riqueza alélica ( $R_A$ ) fue reportada en el *locus* PL119 con 14,530 alelos, mientras que la menor  $R_A$  fue observada en el *locus* PL34 con 8,933 (Tabla 1).

Los resultados por estación piscícola mostraron que el menor número promedio de alelos por *locus* fue registrado en los individuos evaluados en Maracas con un total de 8,714 alelos, mientras que la estación Sena fue la que presentó mayor promedio de alelos por *locus* con 17,429. Este mismo patrón se observó en el número efectivo de alelos  $n_e$  (Tabla 2). En general, una baja heterocigosidad observada ( $H_o$ ) se evidenció en las poblaciones de los siete centros piscícolas, siendo Maracas la que registró menor valor de  $H_o$  (0,109), mientras que la estación San Silvestre fue la que presentó mayor  $H_o$  (0,268). Contrario a esto, la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) registró altos valores en general, donde la estación Sena obtuvo mayor valor de  $H_e$  (0,884), mientras que la estación CVS fue la de menor valor (0,792) (Tabla 2). Todas las poblaciones de las diferentes estaciones piscícolas presentaron valores altos de endogamia ( $F_{IS} > 0,697$ ).

### Estructura genética

El resultado de la prueba  $G''_{ST}$  de Hedrick mostró que entre los diferentes centros piscícolas hay diferenciación genética significativa, aunque no existen patrones claros en cuanto a la distribución desigual de la variabilidad genética del Bocachico. Al analizar los valores de  $G''_{ST}$  pareados en cada estación, se pueden observar fluctuaciones que van desde aquellos que presentan muy poca diferenciación genética como Repelón y San Silvestre con 0,076, hasta aquellos que presentan moderada diferenciación como CVC y CVS con 0,509 (Tabla 3).

El resultado obtenido por el análisis AMOVA mostró que, cuando se agruparon las estaciones piscícolas por cuenca de origen de los reproductores, el mayor porcentaje de variación se localizó entre individuos dentro de las poblaciones y no entre los grupos. Este resultado sugiere una falta de estructuración genética entre los grupos conformados, que se evidencia en los índices de fijación obtenidos por el análisis (Tabla 4).

Por otro lado, el resultado obtenido mediante agrupamiento bayesiano, sugirió la coexistencia de tres grupos genéticos ( $K = 3$ ) en los siete centros piscícolas estudiados. De este modo, las poblaciones de los centros piscícolas de Maracas y CVS mostraron mayor frecuencia para el *clúster* azul oscuro, mientras que las estaciones de Repelón, San Silvestre, CVC y CINPIC presentaron mayor frecuencia para el *clúster* azul claro. Finalmente, los

**Tabla 2.** Parámetros de diversidad genética poblacional detectada en cada centro piscícola.

Población	N	Na	ne	Ho	He	$F_{IS}$
Maracas	43	8,714 (0,892)	5,526 (0,996)	0,109 (0,035)	0,795 (0,024)	0,859 (0,046)
Sena	380	17,429 (1,587)	9,422 (1,074)	0,191 (0,045)	0,884 (0,015)	0,786 (0,049)
Repelón	447	15,286 (1,769)	8,257 (1,599)	0,236 (0,055)	0,851 (0,025)	0,729 (0,060)
San Silvestre	24	11,143 (1,335)	8,149 (1,091)	0,268 (0,065)	0,864 (0,018)	0,697 (0,070)
CVC	39	11,857 (1,870)	7,463 (1,460)	0,199 (0,056)	0,837 (0,027)	0,763 (0,066)
CVS	54	10,000 (1,414)	5,808 (1,136)	0,232 (0,039)	0,792 (0,033)	0,707 (0,048)
CINPIC	57	12,000 (0,976)	7,010 (0,674)	0,181 (0,035)	0,849 (0,015)	0,788 (0,040)

N: Tamaño de muestra, Na: número promedio de alelos, ne: número promedio efectivo de alelos, Ho: Heterocigosidad observada, He: Heterocigosidad esperada,  $F_{IS}$ : índice de endogamia, Entre paréntesis: Desviación estándar.

**Tabla 3.** Valores estimados de estructura genética por pares de poblaciones a partir del índice  $G''_{ST}$  de Meirmans y Hedrick (2011). Valores de  $G''_{ST}$  por debajo de la diagonal y valores de significancia por encima de la diagonal.

	Maracas	Sena	Repelón	San Silvestre	CVC	CVS	CINPIC
Maracas	0,000	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
Sena	0,436	0,000	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
Repelón	0,297	0,222	0,000	0,002	0,002	0,002	0,002
San Silvestre	0,234	0,119	0,076	0,000	0,002	0,002	0,002
CVC	0,401	0,313	0,317	0,298	0,000	0,002	0,002
CVS	0,333	0,409	0,383	0,266	0,509	0,000	0,002
CINPIC	0,315	0,262	0,123	0,115	0,269	0,410	0,000

El gradiente de color azul indica que: a mayor tonalidad mayor grado de estructura entre pares de poblaciones.

**Tabla 4.** AMOVA realizado en las estaciones Sena, Repelón y San Silvestre como el primer grupo, CINPIC y CVS como el segundo grupo y las estaciones CVC y Maracas como tercer y cuarto grupo respectivamente.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	(%) variación	*Promedio índices de fijación	p-valor
Entre grupos	76,446	0,032	1,024	$F_{IS}$ : 0,754	<0,001
Entre poblaciones dentro de los grupos	111,046	0,106	3,368	$F_{SC}$ : 0,034	<0,001
Entre individuos dentro de las poblaciones	4985,153	2,277	72,121	$F_{CT}$ : 0,010	0,022
Entre individuos	701,000	0,742	23,487	$F_{IT}$ : 0,765	<0,001

\*Índices de fijación calculados para los agrupamientos realizados por cuenca hidrográfica de origen.  $F_{IS}$ : coeficiente de endogamia permutado entre individuos dentro las poblaciones;  $F_{SC}$ : coeficiente de diferenciación permutado entre individuos y poblaciones, dentro de los grupos;  $F_{CT}$ : coeficiente de diferenciación permutado entre poblaciones dentro de los grupos;  $F_{IT}$ : coeficiente de endogamia permutado entre poblaciones y entre grupos.

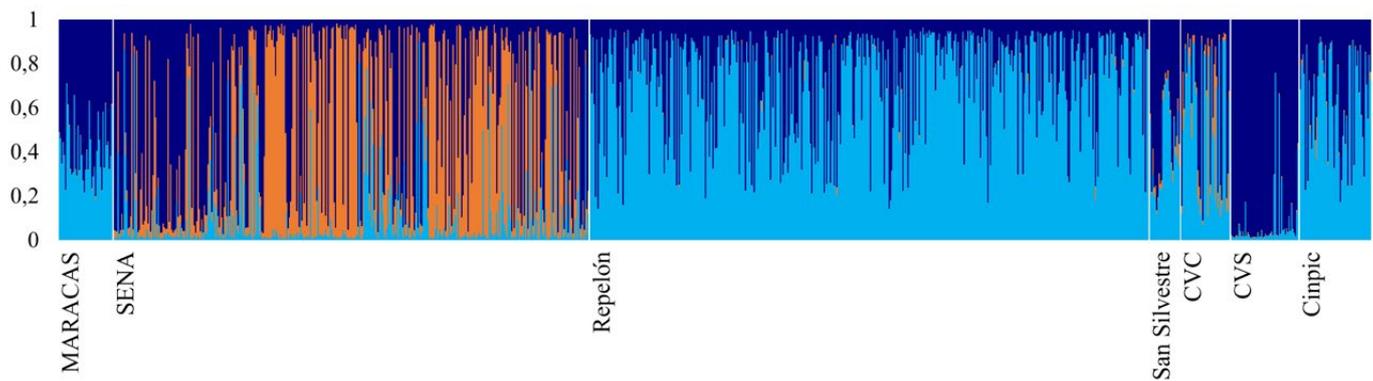


Figura 2. Estructura genética poblacional estimada con marcadores moleculares microsatélites en *P. magdalenae* a partir del agrupamiento bayesiano.

individuos de la estación Sena fueron los que tuvieron mayor mezcla entre los tres *clústeres* encontrados, con mayor representación del *clúster* naranja (Figura 2). Estos resultados muestran que no existe relación entre los grupos genéticos formados y los ríos donde fueron recolectados los individuos de cada piscícola: Maracas (río San Jorge), Sena, Repelón y San Silvestre (río Magdalena), CVC (río Cauca) CVS y CINPIC (río Sinú).

## DISCUSIÓN

### Diversidad genética

El éxito de los programas de repoblamiento de peces en Colombia, depende en gran medida de la variabilidad genética presente en las poblaciones analizadas, por lo que el uso de marcadores moleculares microsatélites permitió detectar con alta eficiencia los alelos presentes en cada uno de los centros piscícolas. Sin embargo, la baja variabilidad observada ( $H_o$ ) y los altos valores de endogamia ( $F_{IS}$ ) encontrados en las estaciones estudiadas, pueden ser resultado no sólo de factores históricos que han afectado a las poblaciones de Bocachico en medio natural. En conjunto con problemáticas como la fragmentación de hábitat (Orozco y Narváez, 2014; Fontalvo *et al.*, 2018) y la sobrepesca (Mojica *et al.*, 2012; SEPEC, 2016), se suma la selección arbitraria de individuos para el establecimiento de los sistemas de reproductores en cada centro, que ocasionaría un efecto fundador. Este último, consiste en la pérdida de variación genética cuando se conforma una población a partir de un bajo número de individuos, lo que causa altos niveles de endogamia (Caujapé Castells, 2006).

Pese a las diferentes problemáticas que experimentan las poblaciones de esta especie, se ha demostrado que la diversidad genética puede recuperarse dentro de las estaciones piscícolas, luego de un buen manejo reproductivo considerando aspectos moleculares. En este sentido, se ha documentado que las progenies

bien manejadas en el Bocachico han presentado mayor calidad genética con respecto a los parentales y esta variabilidad ha sido correlacionada positivamente con la tasa de fertilización, producción de peso y sobrevivencia (Torregroza Espinosa *et al.*, 2015). Esto sugeriría que una buena calidad genética a nivel poblacional reflejará mejores caracteres productivos en los peces seleccionados como reproductores. Por lo anterior, se considera que las poblaciones evaluadas en este trabajo son un recurso genético con alto potencial, dados los valores de heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) registrados, lo que resulta ser de vital importancia a la hora de definir criterios de selección de reproductores para los programas de repoblamiento (Lopera-Barrero *et al.*, 2015).

Los valores de heterocigosidad esperada, son explicados con base en la riqueza alélica detectada por los *loci* (8,933 - 14,530, Tabla 1), y han mostrado similitud con lo reportado para *P. magdalenae* (8,1 - 11,5) por otros autores (Santacruz, 2003; Orozco y Narváez, 2014). Sin embargo, es importante mencionar que la cantidad de individuos con que se inicia un centro piscícola, influye directamente sobre el polimorfismo de los *loci* de las siguientes generaciones (Teija *et al.*, 2006). Es fundamental que los individuos a utilizar para conformar una estación piscícola (alevines o adultos), tengan una caracterización genética previa para garantizar una buena distribución genética en las generaciones posteriores. En general se ha recomendado que los reproductores presenten una heterocigosidad entre 0,3 y 0,6 (Torregroza Espinosa *et al.*, 2015), con un límite de endogamia de 5%, considerando un número mínimo efectivo de animales de 100 en una proporción 1:1. De esta manera, se espera propender a disminuir la homogenización del acervo genético de esta especie para evitar una depresión por endogamia (Bengtsson *et al.*, 1995). Esto maximiza la necesidad de considerar aspectos genéticos y reproductivos dentro del direccionamiento

de los programas de repoblamiento, dados los riesgos del manejo inadecuado que ya se han reportado (Wasko *et al.*, 2004; Porta *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2007) y que además implica necesariamente el realizar un cambio en la composición genética de las poblaciones que son mantenidas en cautividad.

Aunque se realizaron los análisis correspondientes para minimizar el impacto de los alelos nulos en las poblacionales, no se descarta que el déficit de heterocigotos observado pueda ser producto de este fenómeno, así como la desviación detectada en el EHW. Estos patrones asociados a la presencia de alelos nulos y las desviaciones en EHW, ya han sido reportados para el género *Prochilodus* (Hatanaka *et al.*, 2006; Orozco y Narváez, 2014; Fontalvo *et al.*, 2018), y resulta alarmante debido a que los reproductores evaluados presentan niveles de heterocigosis muy pobres. Esto podría ser un espejo de lo que está sucediendo en medio natural, como consecuencia de los repetidos programas de repoblamiento mal direccionados. Sin embargo, los resultados obtenidos por los diferentes índices de diversidad, muestran que estas poblaciones de Bocachico tienen gran potencial para recuperar la diversidad de las poblaciones que se encuentran habitando en medio silvestre.

### Estructura genética

Mediante aproximaciones bayesianas realizadas con el programa STRUCTURE, se encontró que existen tres grupos genéticos diferenciados distribuidos entre los diferentes lotes de reproductores (Figura 2). Estos resultados fueron congruentes con lo que se ha reportado para las poblaciones silvestres de *P. magdalenae*, donde se evidencia la co-existencia de tres poblaciones genéticas en la cuenca del Magdalena (Orozco y Narváez, 2014; Fontalvo *et al.*, 2018). Dado que *P. magdalenae* es considerado un pez migratorio de larga distancia (Jiménez-Segura *et al.*, 2010; Aguirre Pabón *et al.*, 2013) sus poblaciones silvestres han experimentado una fuerte diferenciación, que ha sido detectada a través del uso de marcadores moleculares microsatélites. Dicha diferenciación ha sido atribuida a varias causas donde se destaca la presencia de barreras artificiales en toda la longitud del río (Jiménez-Segura *et al.*, 2014), que ha limitado la dispersión de la especie durante su proceso migratorio (Fontalvo *et al.*, 2018).

Este trabajo muestra que los grupos detectados no fueron genéticamente homogéneos, lo que indica que entre las estaciones existe flujo, a pesar de que los lotes de reproductores son obtenidos de diferentes ríos. Lo anterior implica que al menos un individuo recolectado en cada estación muestreada fue asignado a uno de los tres grupos. Sin embargo, este comportamiento no fue evidente en las muestras recolectadas en las estaciones piscícolas del río San Jorge (Maracas) y

Sinú (CVS y CINPIC), donde sólo fue posible identificar dos *clústeres* poblacionales. Mientras que la estación piscícola que presentó más mezcla ( $K=3$ ) fue la del Sena, en la cual los reproductores fueron obtenidos de parte baja de la Cuenca del río Magdalena. Este aspecto tiene implicaciones importantes, debido a que 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). Por ende, la coexistencia de tres poblaciones en la parte baja de la cuenca del río Magdalena (ciénagas y cauce principal del río) (Orozco y Narváez, 2014), podría explicar la conformación genética de este lote de reproductores. Es fundamental aclarar que entre algunos lotes de reproductores existe una distancia geográfica considerable (CVC y SENA= Aprox. 1000 km), siendo los animales capturados directamente en el río Cauca y el Magdalena respectivamente. Pese a 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  $G''_{ST}$  (0,313) que mostró una baja diferenciación.

Adicionalmente, estos procesos de sub-estructuración en poblaciones silvestres de Bocachico, se mantienen bajo la hipótesis de ondas reproductivas (Jorgensen *et al.*, 2005; Orozco y Narváez, 2014). Esta hipótesis plantea que, aunque las poblaciones coexisten en un mismo hábitat, el proceso de desove se realiza en tiempos diferentes. Esto hace que las estaciones piscícolas que quieran implementar programas de repoblamiento, tengan que garantizar en la conformación de sus lotes, la presencia reproductores representantes de cada uno de los grupos genéticos encontrados en cada cuenca. Este aspecto es de vital importancia debido a que puede inducir la pérdida de genes importantes en la adaptación al ambiente que limiten la capacidad de supervivencia de los organismos liberados (Sønstebo *et al.*, 2007).

Este precedente es un indicativo de que se debe respetar la integridad genética de cada cuenca, evitando eventos de reintroducción de organismos entre cuencas diferentes, ya que 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. Lopera-Barrero *et al.* (2007) mediante el seguimiento de un programa de repoblamiento realizado con la especie *P. lineatus*, demostraron que la utilización de estrategias reproductivas incorrectas contribuyen a la baja variabilidad genética de las poblaciones de esta especie. Eventualmente Povh (2007) demostró también que la diversidad genética de poblaciones de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887, en cautiverio fue menor que la de las poblaciones silvestres, por causa de un manejo reproductivo deficiente de los animales. Por

estas razones, se sugiere que el manejo reproductivo y genético de las poblaciones de Bocachico destinadas a programas de repoblamiento, no puede ser realizado de manera homogénea. 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.

## 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. Esto sugiere que las poblaciones presentan algún tipo de riesgo para su continuidad en el ambiente natural. Sin embargo, estas estrategias muchas veces son ejecutadas sin ningún criterio técnico-científico que soporte su uso, como es el caso de los repoblamientos realizados con especies nativas (Merino *et al.*, 2013).

Con base en los hallazgos de este trabajo, se recomienda la implementación de los siguientes pasos para la aplicabilidad de esta estrategia en Colombia: i) la realización de una caracterización genética total de los lotes de reproductores y su afinidad con las poblaciones en medio natural sujetas al programa de repoblación; ii) 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 valiosa para la adaptabilidad de las poblaciones; iii) Implementar lotes de reproductores por separado que respeten la integridad genética de las poblaciones halladas en medio natural; y iv) 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.

Finalmente, la conservación de todo el sistema ecológico donde habita la especie objetivo es necesaria para que exista un verdadero éxito en un programa de repoblamiento 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, y así garantizar la continuidad de los recursos ícticos en Colombia, siendo el Bocachico un modelo de referencia para otras especies de peces reofílicos en peligro de extinción.

## 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: 1-14.
- 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* 23 (4): 594-605.
- Arrieta Echeverry J. (2013) 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. Programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad del Magdalena, Colombia.
- Aung O., Nguyen T., Poompuang S., Kamornrat W. (2010) Microsatellite DNA Markers Revealed Genetic Population Structure among Captive Stocks and Wild Populations of Mrigal, *Cirrhinus Cirrhosus* in Myanmar. *Aquaculture* 299 (1-4): 37-43.
- Bengtsson B., 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* 122: 221-38.
- Carvalho Costa L., Hatanaka T., Galetti J. (2008) Evidence of Lack of Population Substructuring in the Brazilian Freshwater Fish *Prochilodus Costatus*. *Genetics and Molecular Biology* 31 (1): 377-80.
- Caujapé Castells J. (2006) *Brújula para Botánicos Desorientados en la Genética de Poblaciones*. Las Palmas.
- CCI (2006) *Pesca y Acuicultura: Colombia, Bogotá*. Corporación Colombia Internacional-INCODER.
- Earl D., VonHoldt B. (2012) STRUCTURE HARVESTER: A Website and Program for Visualizing STRUCTURE Output and Implementing the Evanno Method. *Conservation Genetics Resources* 4 (2): 359-61. doi:10.1007/s12686-011-9548-7.
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. (2005) Detecting the Number of Clusters of Individuals Using the Software STRUCTURE: A Simulation Study. *Molecular Ecology* 14: 2611-20. doi:10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. (2005) Arlequin Ver. 3.0: An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Falush D., Stephens M., Pritchard J. (2003) Inference of Population Structure: Extensions to Linked Loci and Correlated Allele Frequencies. *Genetics* 164: 1567-87.
- Fontalvo P., Orozco G., Narváez J. (2018) Diversity and Genetic Structure of *Prochilodus Magdalenae* (Pisces:Prochilodontidae) Upstream and Downstream Betania Dam, Colombia. *Intrópica* 13 (2): 87-100.
- Galzerani F. (2007) Análise da Variabilidade Genética de *Prochilodus Argenteus* (Pisces, Prochilodontidae) do Rio São Francisco, Região de Três Marias, através de Marcadores Microsatélites. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brazil.
- Goudet J. (1995) FSTAT: A Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices.

- Guevara Rincón L. (2014) 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. Programa de Zootecnia, Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente, Universidad Francisco de Paula Santander, Colombia.
- Guo S., Thompson E. (1992) Performing the Exact Test of Hardy-Weinberg Proportion for Multiple Alleles. *Biometrics* 48: 361-72.
- Hatanaka T., Henrique Silva F., Galetti P.M. (2006) Population Substructuring in a Migratory Freshwater Fish *Prochilodus Argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the São Francisco River. *Genetica*, Dordrecht 126 (1-2): 153-59.
- Hubisz M., Falush D., Stephens M., Pritchard J. (2009) Inferring Weak Population Structure with the Assistance of Sample Group Information. *Molecular Ecology Resources* 9: 1322-32. doi:10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x.
- IDEAM (2014) Estudio Nacional Del Agua. Bogotá, D.C.
- Jiménez Segura L., Palacio J., Leite R. (2010) River Flooding and Reproduction of Migratory Fish Species in the Magdalena River Basin, Colombia. *Ecology of Freshwater Fish* 19: 178-86.
- Jiménez-Segura L., Restrepo Santamaría D., López Casas S., Delgado J., Valderrama M., Álvarez J., Gómez D. (2014) Ictiofauna y Desarrollo del Sector Hidroeléctrico en la Cuenca del Río Magdalena-Cauca, Colombia. *Biota Colombiana* 15 (2): 3-25.
- Jorgensen H., Hansen M., Bekkevold D., Ruzzante D., Loeschcke V. (2005) Marine Landscape and Population Genetic Structure of Herring (*Clupea harengus* L.) in the Baltic Sea. *Molecular Ecology* 14: 3219-34.
- Kopelman N., Mayzel J., Jakobsson M., Rosenberg N., Mayrose I. (2015) CLUMPAK: A Program for Identifying Clustering Modes and Packaging Population Structure Inferences across K. *Molecular Ecology Resources* 15 (5): 1179-91. doi:10.1111/1755-0998.12387.
- Lopera-Barrero N., Lima E., Filho L., Goes E., Castro P., Zardin A., Poveda Parra A., Ribeiro R. (2015) Genetic Variability of Broodstocks of Restocking Programs in Brazil. *Revista MVZ Cordoba* 20 (3): 4677-87. doi:10.21897/rmvz.38.
- Lopera-Barrero N., Ribeiro R., Jacometo C., Oliveira S., Streit D., Blanck D. (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.
- Lopera-Barrero N., Ribeiro R., Povh J., Sirol R., Mangolin C. (2010) Avaliação Genética de Populações Naturais e de Estoques de um Programa de Repovoamento de Pacu (*Piaractus Mesopotamicus*) utilizando Marcadores Microsatélite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 62 (4): 954-63. doi:10.1590/S0102-09352010000400027.
- 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* 41: 707-17.
- Maldonado Ocampo J., Ortega Lara A., Usma J., Galvis G., Villa Navarro F., Vásquez L., Prada Pedreros S., Ardila C. (2005) Peces de Los Andes de Colombia. Bogotá D.C., Instituto de Investigación de Recursos Biológicos, Alexander Von Humboldt.
- 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. *Intrópica* 3 (1): 29-37.
- Meirmans P., Hedrick P. (2011) Assessing Population Structure: FST and Related Measures. *Molecular Ecology Resources* 11: 5-18.
- Merino M., Bonilla S., Bages F. (2013) Diagnóstico del Estado de la Acuicultura en Colombia. En: Flores A. (Ed.) *Autoridad*, Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Mojica J., Usma J., Álvarez León R., Lasso C. (2012) Libro Rojo de Peces Dulceacuícolas de Colombia, Bogotá, D.C. 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.
- Moreira A., Hilsdorf A., Silva J., Souza V. (2007) Genetic Variability of Two Nile Tilapia Strains by Microsatellites Markers. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42: 521-26.
- Orozco G., Narváez J. (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.
- Park S. (2001) MStools (Excel Spreadsheet Toolkit for Data Conversion). Smurfit Institute of Genetics Trinity College, Dublin, Ireland.
- Peakall R., Smouse P. (2006) GenALEX 6.5: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching and Research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-95. doi:10.1111/j.1471-8286.2005.01155.
- Petersen R., Garcia J., Mello G., Liedke A., Sincero T., Grisard E. (2012) Análise da Diversidade Genética de Tilápias Cultivadas no Estado de Santa Catarina (Brasil) utilizando Marcadores Microsatélites. *Boletim do Instituto de Pesca* 38 (4): 313-21.
- 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* 251 (1): 46-55.
- Povh J. (2007) Avaliação da Diversidade Genética e do Manejo Reprodutivo do Pacu, *Piaractus Mesopotamicus*. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil.
- Povh J., Lopera-Barrero N., Ribeiro R. (2008) Importancia del Monitoreo Genético de Programas de Repoblamiento de Peces mediante Marcadores Moleculares. *Ciencia e Investigación Agraria* 35 (1): 25-35.
- Povh J., Ribeiro R., Lopera-Barrero N., Jacometo C., Vargas L., Gomes P., Lopes T. (2011) Microsatellite Analysis of Pacu Broodstocks used in the Stocking Program of Paranapanema River, Brazil. *Scientia Agricola* 68 (3): 308-13. doi:10.1590/s0103-90162011000300006.
- Rico C., Cuesta J., Drake P., Macpherson E., Bernatchez L., Marie A. (2017) Null Alleles Are Ubiquitous at Microsatellite Loci in the Wedge Clam (*Donax Trunculus*). *PeerJ* 5: e3188. doi:10.7717/peerj.3188.
- Rousset F. (2008) GENEPOP'007: A Complete Re-Implementation of the GENEPOP Software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8 (1): 103-6. doi:10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x.
- Rueda E., Sommer J., Scarabotti P., Markariani R., Ortí G. (2011) Isolation and Characterization of Polymorphic Microsatellite Loci in the Migratory Freshwater Fish *Prochilodus Lineatus* (Characiformes:Prochilodontidae). *Conservation Genetics Resource* 3 (4): 681-84.
- Santacruz B. (2003) Evaluación de la Variabilidad Genética con Marcadores Microsatélites del Bocachico *Prochilodus Magdalenae* (Steindachner 1878) en el río Sinú, Colombia. Universidad Nacional de Colombia.
- SEPEC, Sistema Estadístico Pesquero Colombiano (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, Colombia.
- Silva A. (2011) Estrutura Genética Populacional de *Prochilodus Costatus Valenciennes 1850* (Characiformes, Prochilodontidae) No Alto São Francisco. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brazil.

- Sønstebo J., 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* 8: 33-44.
- Teija A., Johanna R., Jorma P., Mats B. (2006) Impacts of Effective Population Size on Genetic Diversity in Hatchery Reared Brown Trout (*Salmo Trutta L.*) Populations. *Aquaculture* 253: 244-48.
- Torregroza Espinosa A., Narváez J., Orozco G. (2015) Variabilidad Genética en la Producción de Larvas de *Prochilodus Magdalenae* usadas en Programas de Repoblamiento en el río Magdalena, Colombia. *Hidrobiológica* 25 (2): 187-92.
- Van Oosterhout C., Hutchinson W., Wills D., Shipley P. (2004) MICRO-CHECKER: Software for Identifying and Correcting Genotyping Errors in Microsatellite Data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535-38. doi:10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x.
- Waples R., Drake J. (2004) Risk-Benefit Considerations for Marine Stock Enhancement: A Pacific Salmon Perspective. In: Leber K.M., Kitada S., Blankenship H.L., Svasand T. (Eds.) *Stock Enhancement and Sea Ranching: Developments Pitfalls and Opportunities*, 2nd Ed. Blackwell, Oxford.
- Wasko A., Martins C., Oliveira C., Senhorini J.A., Foresti F. (2004) Genetic Monitoring of the Amazonian Fish *Matrinchá* (*Brycon Cephalus*) Using RAPD Markers: Insights into Supportive Breeding and Conservation Programmes. *Journal of Applied Ichthyology* 20 (1): 48-52.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los entes financiadores por el apoyo recibido mediante la ejecución 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). Así mismo, se agradece a cada una de las personas que integran el laboratorio de Biología Molecular del grupo de investigación de Biodiversidad y Ecología Aplicada (GIBEA) de la Universidad del Magdalena, que hicieron parte de este trabajo.