



**EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE
REPRODUCTORES DE ESPECIES NATIVAS DE BOCACHICO
(*Prochilodus magdalenae*), CAPAZ (*Pimelodus grosskopfii*) Y
PATALÓ (*Ichthyolephas longirostris*) EN LA ESTACIÓN
PISCÍCOLA DEL ALTO MAGDALENA-AUNAP (GIGANTE, HUILA),
CON FINES DE REPOBLAMIENTO.**

Albert Adanies De Luque Redondo

Universidad Magdalena

Facultad de ciencias básicas.

Programa de biología

Santa marta, Colombia

2020



**EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE
REPRODUCTORES DE ESPECIES NATIVAS DE BOCACHICO
(*Prochilodus magdalenae*), CAPAZ (*Pimelodus grosskopfi*) Y
PATALÓ (*Ichthyolephas longirostris*) EN LA ESTACIÓN
PISCÍCOLA DEL ALTO MAGDALENA-AUNAP (GIGANTE, HUILA),
CON FINES DE REPOBLAMIENTO.**

Albert Adanies De Luque Redondo.

Trabajo presentado como requisito parcial para optar al título de:
Biólogo.

Director (a):

Ph.D (C) Juan Carlos Aguirre-Pabón.

Codirector (a):

Ph.D (C) Gilberto Junior Orozco Berdugo.

Línea de Investigación:

Nombrar la línea de investigación en la que se enmarca el trabajo

Grupo de Investigación:

Grupo de Investigación Biodiversidad y Ecología Aplicada (GIBEA).

Universidad del Magdalena

Facultad ciencias básicas.

programa de biología.

Santa marta, Colombia

2020

Nota de aceptación:

Aprobado por el Consejo de Programa en cumplimiento de los requisitos exigidos por la Universidad del Magdalena para optar al título de biólogo.

Jurado

Jurado

Santa Marta, ____ de ____ del _____

(Dedicatoria o lema)

“La honra y la gloria sea para Dios”

Dedicado a la memoria de mi abuela Agustina y mi padre Pedro.

Agradecimientos

Al proyecto “REALIZAR UN ESTUDIO GENÉTICO-POBLACIONAL Y GENÓMICO SOBRE ESPECIES DE PECES NATIVAS Y TILAPIA, CON PROPÓSITOS DE CONFORMACIÓN DE LOTES PARA REPOBLAMIENTO Y MEJORAMIENTO GENÉTICO EN LAS ESTACIONES PISCÍCOLAS DE GIGANTE, HUILA Y REPELÓN, ATLÁNTICO” convenio 215-2019 AUNAP-UNIMAGDALENA.

A mi madre (Minelis Redondo Márquez), mis sobrinos (Andrés y Andrea) y al resto de mi familia, los cuales han sido un pilar fundamental en mi educación y formación desde que tengo uso de razón, y sobre todo desde el momento que decidí estudiar biología, no han parado de orientarme y preocuparse por mi bienestar. Ellas son las únicas personas que siguen sin saber a qué me dedico exactamente y qué finalidad tiene este trabajo. Pero su Fe y Confianza ciega en mí, no los han llevado a dudar ni un segundo que lo que hacía estaba bien.

En el ámbito de la formación como biólogo, me he encontrado con muchas personas que, sin saber por qué, han confiado en mí plenamente. Como lo son; Juan Carlos Aguirre y Gilberto Orozco Berdugo de los cuales he sentido su plena confianza, a quienes les debo lealtad y compromiso. Mi querida Karen que con su amor infinito vela día y noche por mí. Mis amig@s Jesús, Mauricio, Eimmy, Lia. Mis compañeros del laboratorio 6: Encho, Harold, Maira, Nelson, entre otros. con los cuales nunca deje de disfrutar en toda esta travesía. Evidentemente, hay muchas docenas de personas vinculadas directa o indirectamente y no serán posible de nombrar porque la lista se haría infinita.

De todos ellos asimilé a organizarme, a poner todos mis sentidos en lo que quiero, a ser optimista en momentos difíciles, a afrontar los problemas y errores, a aceptar mis limitaciones, y lo más importante, respeto por las personas que tengo a mi alrededor.

¡Muchas gracias a todos!

Contenido.

Resumen.....	IX
Abstrac.....	X
1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
3. Marco teórico	4
3.1 <i>Prochilodus magdalenae</i> (Steindachner 1879)	4
3.2 <i>Pimelodus grosskopfii</i> (Steindachner, 1879)	4
3.3 <i>Ichthyoelephas longirostris</i> (Steindachner, 1879)	5
4. Materiales y Métodos.....	11
4.1. Área de estudio.....	11
4.2. Fase de campo.....	11
4.3. Fase de laboratorio.....	13
5. Resultados	22
6. Discusión.....	25
7. Conclusión.....	28
8. Bibliografía.....	29
9. Anexos.....	35
Anexos 1.....	35
Anexos 2.....	38
Anexos 3.....	41

Lista de figuras

Figura 1. *Prochilodus magdalenae*,

Figura 2. *Pimelodus grosskopfii*,

Figura 3. *Ichthyoelephas longirostris*,

Figura 4. "Genética de poblaciones".

Figura 5. "Efecto_fundador".

Figura 6. Esquema de la metodología de genotipado RAD-seq.

Figura 7. Glass-Transponders, aplicador y lector electrónico PetScan

Figura 8. Variación de la diversidad genética individual (H_o) en los reproductores de pataló en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila).

Figura 9. Variación de la diversidad genética individual (H_o) en los reproductores de bocachico en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila).

Figura 10. Variación de la diversidad genética individual (H_o) en los reproductores de capaz en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila).

Figura 11. Distribución genética de los individuos en el PCoA en función de su diferenciación genética. A) capaz y B) pataló.

Figura 12. Distribución genética de los individuos de bocachico en el PCoA en función de su diferenciación genética.

Figura 13. Gráfico *barr plot* con el más alto valor para Delta K ($K=2$), resultado del agrupamiento generado por el programa STRUCTURE para la estación piscícola.

Lista de tablas

Tabla 1. Parámetros usados en STACKS por cada especie después de estandarización RADtaq.

Tabla 2. Parámetros globales de diversidad genética en las especies de bocachico, capaz y pataló, en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila).

Resumen

Las poblaciones cautivas con fines de establecer sistemas de cultivo están sujetas a una gran pérdida de diversidad genética, esto debido a que: 1) los individuos con que se conforma el stock son obtenidos del medio natural sin información previa de la diversidad genética, 2) el stock se obtiene mediante un efecto fundador (cuello de botella) que reduce significativamente el número de genes de la población original, 3) son confinadas y sometidas a procesos selectivos donde se incrementa la endogamia, y 4) no existe un monitoreo para determinar la pérdida de diversidad genética en todo este proceso. Es por ello que el monitoreo de la diversidad genética de lotes de peces mantenidos en cautiverio debe de ser aplicada para realizar cruces dirigidos y minimizar la pérdida de diversidad en las progenies. Por tal motivo, esta investigación pretendió evaluar la variabilidad genética en las especies nativas de bocachico, capaz y pataló en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila)., con el propósito de obtener información base para el establecimiento de sistemas de cultivo para diversos fines. Para ello se usó la técnica conocida como RAD sequencing (Restriction site Associated DNA Sequencing), la cual consiste en el corte del ADN genómico mediante el uso de enzimas de restricción específicas, las cuales pueden ser seleccionadas de acuerdo con su frecuencia de corte con el fin de reducir el genoma deseado. Esta técnica permite obtener miles de nuevos marcadores polimórficos informativos útiles para mapeos genéticos, en este sentido el monitoreo de la variabilidad genética en las estaciones piscícolas es trascendental para la conservación de la capacidad de adaptación de una especie, dichos resultados permitirán orientar objetivamente estos lotes de peces utilizados con diferentes fines (ej. programas de repoblamiento, fines comerciales, etc.) y así evitar la pérdida de variabilidad genética en los reproductores y en las progenies.

Palabras claves

Diversidad genética, cuello de botella, efecto fundador, sobrepesca, repoblación.

Abstract

Captive populations for the purpose of establishing cultivation systems are subject to a great loss of genetic diversity, due to the fact that: 1) the individuals that make up the stock are obtained from the natural environment without prior information on genetic diversity, 2) the stock is obtained through a founder effect (bottleneck) that significantly reduces the number of genes in the original population, 3) they are confined and subjected to selective processes where inbreeding increases, and 4) there is no monitoring to determine the loss of genetic diversity throughout this process. That is why the monitoring of the genetic diversity of batches of fish kept in captivity should be applied to carry out directed crosses and minimize the loss of diversity in the progeny. For this reason, this research aimed to evaluate the genetic variability in the native species of bocachico, capaz and pataló in the fish farm. Gigante - AUNAP (Huila), in order to obtain basic information for the establishment of cultivation systems for various purposes. For this, the technique known as RAD sequencing (Restriction site Associated DNA Sequencing) was used, which consists of cutting genomic DNA through the use of specific restriction enzymes, which can be selected according to their cutting frequency with the in order to narrow down the desired genome. This technique allows to obtain thousands of new informative polymorphic markers useful for genetic mapping, in this sense the monitoring of the genetic variability in the fish farming stations is transcendental for the conservation of the adaptability of a species, these results will allow to objectively orient these batches of fish used for different purposes (eg restocking programs, commercial purposes, etc.) and thus avoid the loss of genetic variability in broodstock and progeny.

Keywords:

Genetic diversity, bottleneck, founder effect, overfishing, resettlement.

1. Introducción

La variabilidad genética, en sentido más amplio, es el componente más básico de la biodiversidad y se define como las variaciones heredables que ocurren en cada organismo, entre los individuos de una población y entre las poblaciones dentro de una especie (Piñero *et al.*, 2008). Dichas variaciones surgen en el seno de las poblaciones mediante mutaciones espontáneas o por inmigración de individuos de poblaciones diferentes genéticamente (FAO/PNUMA, 1984), y son el componente principal de la adaptación a los cambios en el ambiente y el motor de la evolución y su monitoreo es vital en poblaciones pequeñas y aisladas o confinadas, porque permite evaluar su capacidad a responder a presiones del ambiente y perpetuarse.

Para el país no se han documentado los efectos producidos por factores como la sobrepesca indiscriminada, la construcción de estructuras hidráulicas y el deterioro y fragmentación del hábitat sobre la diversidad genética de las especies de peces nativos (ej. bocachico, capaz y pataló); es posible que debido a estos factores haya una pérdida de genes adaptativos, interrupción en el flujo de genes, cuellos de botella o sean afectados por deriva genética. Por ejemplo, es bien documentado que el aislamiento poblacional ocasionado por represas tiende a reducir el flujo genético y la variabilidad genética de las poblaciones aisladas y, por consiguiente, la habilidad adaptativa para soportar los cambios ambientales, generando restricciones en el potencial adaptativo y en la supervivencia (Hanfling y Brandl, 1998).

Para minimizar esta problemática, en especial por la sobrepesca, se han implementado diversas medidas de protección a los recursos hidrobiológicos como son: la implementación de tallas mínimas de captura, la prohibición de algunas artes de pesca, vedas y la repoblación de los sistemas lénticos y lóticos (Agostinho *et al.*, 2005). Si bien esta última alternativa ha sido una de las más usadas en varios países de sur América y la más prometedora, esta práctica puede en diversos casos ser ineficaz y magnificar el impacto ambiental, ya que los programas de repoblamiento que actualmente se llevan a cabo no se basan en criterios técnicos y científicos. Dichos criterios se refieren a los aspectos genéticos que no suelen tenerse en cuenta en los programas de cruce de especies, favoreciendo la mezcla de reproductores emparentados entre sí y arrojando como consecuencia la reducción de la variabilidad genética (Moreira *et al.*, 2003; Povh *et al.*, 2006). Lo anterior puede promover en la población una mayor sensibilidad a las variaciones ambientales, afectando el crecimiento, la reproducción y en ocasiones conllevando a la extinción (Lopera-Barrero *et al.*, 2006).

Lo anterior tiene una importante connotación si se tiene en consideración que poblaciones cautivas con fines de establecer sistemas de cultivo están sujetas a una gran pérdida de diversidad genética, esto debido a que **i)** son originadas mediante un cuello de botella que reduce significativamente el número de genes de la población original, y **ii)** su establecimiento es un efecto fundador en el cual el proceso de selección consiste en cruzar individuos con características deseadas para ser fijadas en la población tras cruces sucesivos a lo largo de varias generaciones; esto involucra el uso de individuos emparentados (ej. primos o hermanos), lo que reduce drásticamente la diversidad genética por endogamia (FAO/PNUMA, 1984). Es por ello que el monitoreo de la diversidad genética de lotes de peces mantenidos en estaciones piscícolas con fines de repoblamiento tiene una gran importancia para la conservación de las especies de peces en ambientes naturales (Povh *et al.*, 2008).

En Colombia, los repoblamientos han representado una estrategia importante en el esfuerzo por garantizar la seguridad alimentaria de las comunidades locales; por ejemplo, los registros de repoblamientos con bocachico en la cuenca del río Magdalena en los sectores medio y bajo, han aumentado (Ayazo *et al.*, 2018). En este sentido, Torregroza *et al.* (2015), y Orozco y Narváez (2014), reportaron una baja variabilidad genética en poblaciones naturales y cautivas de bocachico en la cuenca del río Magdalena, lo que sugiere un posible efecto de lo descrito anteriormente. Por otro lado, Perdomo *et al.* (2014), evaluando la diversidad genética en el pataló en el río Ranchería y La Miel (río Magdalena) hallaron una variabilidad de moderada a alta; mientras que para el capaz no se reporta ningún tipo de estudio en el ámbito genético.

Por tal motivo, esta investigación pretende evaluar los niveles de diversidad genética de los stocks de reproductores de especies nativas de bocachico, capaz y pataló en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila). con el propósito de establecer información base para el establecimiento de sistemas de cruces de reproductores usados en sistemas de repoblamiento.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Evaluar la variabilidad genética en las especies nativas de bocachico (*Prochilodus magdalenae*), capaz (*Pimelodus grosskopfii*) y pataló (*Ichthyolephas longirostris*) en la estación piscícola de Gigante - AUNAP (Huila), para el establecimiento de sistemas de repoblamiento mediante el uso de la herramienta molecular RAD sequencing.

2.2 Objetivos Específicos

1. Determinar los niveles de variabilidad genética grupal e individual en las especies nativas de bocachico, capaz y pataló en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila).
2. Evaluar la estructura genética de los stocks de las especies objeto de estudios bocachico, capaz y pataló en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila).
3. Proponer listados de variabilidad genética individual que permita el cruce dirigido de individuos de las especies nativas de bocachico, capaz y pataló con el fin de establecer sistemas de repoblamiento con criterio genético.

3. Marco teórico

3.1 *Prochilodus magdalenae* (Steindachner 1879)

Conocida con el nombre común de bocachico, de boca pequeña, labios carnosos en forma de disco más o menos protráctil, dientes pequeños y numerosos, espina pre-dorsal. Sus escamas son rugosas y ásperas al tacto (Mojica et al., 2012). Es un pez detritívoro, pues su dieta está compuesta básicamente por detritos orgánicos principalmente depositados en los fondos de los ríos, ciénagas o estanques (Cortés, 2003). Es una especie migratoria cuyo ciclo de vida está relacionado con los patrones hidrológicos de inundación y estiaje (Dahl, 1971). Es la especie dulceacuícola con mayor importancia comercial en Colombia; ha sustentado por muchos años el mayor porcentaje de las pesquerías en el Magdalena, Sinú y Atrato (Mojica et al., 2002; Olaya-Nieto et al., 2003; Rivas et al., 1999).

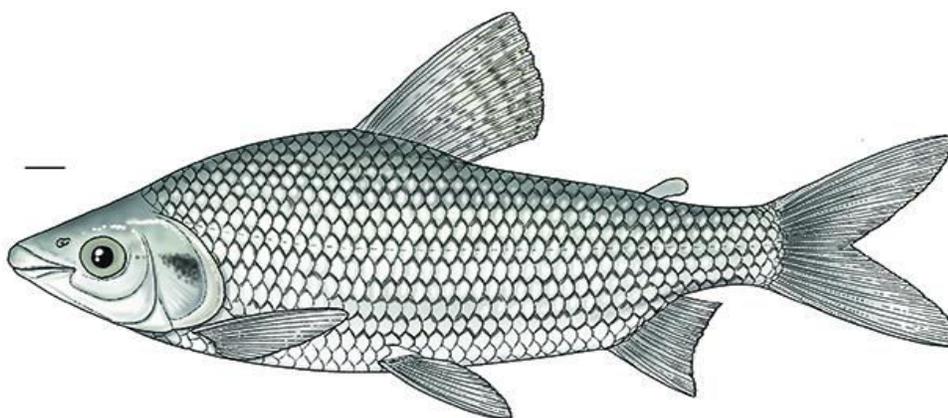


Figura 1. Calle, J. (2004, 4 febrero). *Prochilodus magdalenae* [Ilustración]. <http://repository.humboldt.org.co/handle/20.500.11761/33467?locale-attribute=en>

3.2 *Pimelodus grosskopfii* (Steindachner, 1879)

Conocido como capaz o barbudo (Maldonado-Ocampo et al., 2005). Es un pez de hábitos alimenticios omnívoros, con preferencia por insectos, macroinvertebrados y peces (Villa-Navarro, 1999). Tiene dos migraciones anuales, coincidentes con las variaciones anuales del caudal del río Magdalena (Mojica et al., 2012). Por las características de calidad de su carne, tiene alta aceptación en el mercado nacional y un significativo valor comercial (Valbuena et al., 2012).

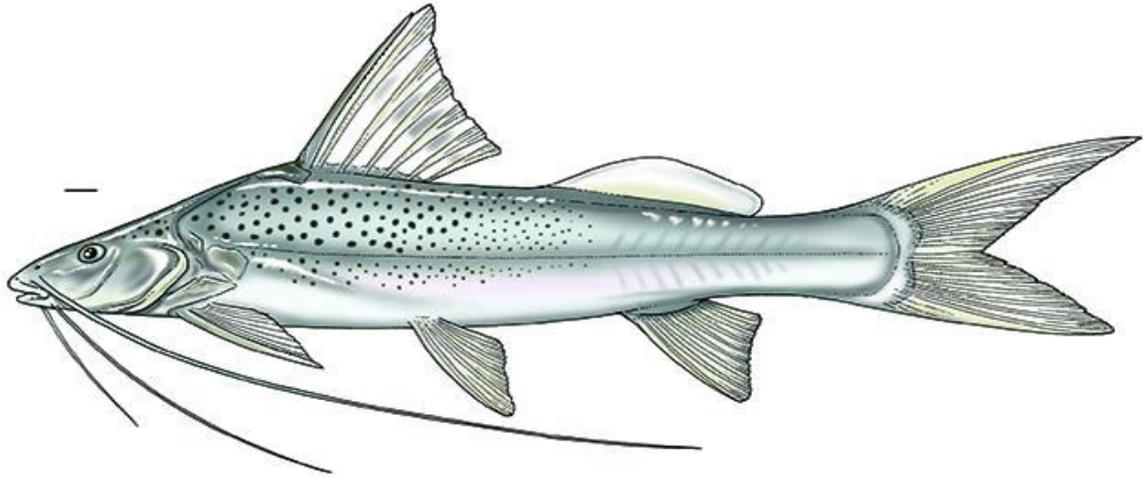


Figura 2. Calle, J. (2004, febrero 3). *Pimelodus grosskopfii* [Ilustración]. <http://repository.humboldt.org.co/handle/20.500.11761/33596?locale-attribute=es>

3.3 *Ichthyoelephas longirostris* (Steindachner, 1879)

Conocida como pataló, es una especie con distribución en la cuenca de los ríos Magdalena y Ranchería (Román Valencia y Ortiz-Muñoz, 2001; Mojica *et al.*, 2002). Su alimentación es limnófaga con características omnívoras, siendo más frecuente el material inerte y vegetal (Caicedo y Prado, 2014). Aceptación para el consumo debido a la calidad de su carne, la especie se reproduce en aguas torrentosas, migrando en cardúmenes (Perdomo *et al.*, 2014).

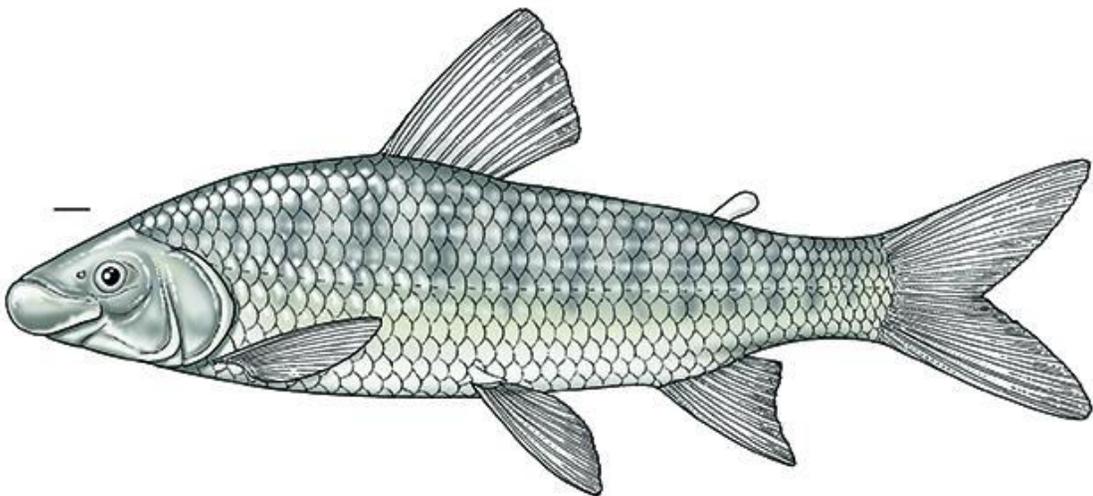


Figura 3. Calle, J. (2004, febrero 3). *Ichthyoelephas longirostris* [Ilustración]. <http://repository.humboldt.org.co/handle/20.500.11761/33574>

3.4 Importancia de la diversidad genética y los principales parámetros para su estimación

La diversidad genética se origina a nivel molecular en los ácidos nucleicos, a partir de las mutaciones en las bases nucleotídicas del mismo individuo, estas mutaciones originadas pueden ser eliminadas o fijadas por la selección natural o por procesos aleatorios como es la deriva genética (Moreno, 2001).

Variabilidad genética ampliamente es el componente más elemental de la biodiversidad y se refiere a las variaciones heredables que suceden en cada organismo, entre los individuos de una población (Piñero *et al.*, 2008); estas variaciones dan lugar a los diferentes genotipos y son el combustible para que cualquier especie pueda evolucionar y adaptarse a los cambios ambientales, experimentando una posibilidad menor de extinción (Donoso, 2004). Por lo que su comprensión, es de vital importancia para la conservación de especies amenazadas, como para el rendimiento de la productividad agrícolas, pecuarias, y el manejo del recurso pesquero (FAO/PNUMA, 1984)

La medición de la diversidad genética de las poblaciones se realiza con la ayuda de marcadores moleculares y utilizando diversos parámetros de estimación como lo son:

3.5 Polimorfismo

El polimorfismo es un estipulado del número de loci variable en una población y se calcula dividiendo el número de loci polimórficos de esta entre el número total de loci analizados (Sosa *et al.*, 2002).

$$P = \frac{N^{\circ} \text{ total de loci polimórfico}}{N^{\circ} \text{ total de loci}}$$

El polimorfismo genético son variantes que aparecen por mutaciones en algunos individuos, se transfieren a la descendencia y adquieren cierta frecuencia en la población; tras múltiples generaciones, podría conllevar a fortalecer a cada individuo de una población y proporcionarles ventajas (Guttmacher, 2002).

3.6 Riqueza alélica

La riqueza alélica (A) es el número medio de alelos por locus y cuantifica el número total de alelos diferentes detectado en una población. Número medio de alelos por locus (A), constituye una medida de la variabilidad genética que

cuantifica el número total de alelos desiguales encontrados en cada uno de los loci de una población.

$$\bar{A} = \frac{1}{L} \sum_{l=1}^L a_l \quad 1 \leq \bar{A} \leq \max a_l$$

Cada población puede sufrir una mayor o menor disminución en su diferenciación genética original debido al “efecto fundador” o “cuello de botella”, fenómeno natural que afecta especialmente a aquellos alelos de más baja frecuencia (Bouzat, 2010).

3.7 Heterocigosidad

La heterocigosidad mide la proporción de individuos heterocigotos, para un determinado locus dividido entre el número total de la muestra.

3.7.1 La heterocigosidad observada (H_o) Estima la probabilidad, en organismos con cruzamiento al azar, que dos alelos escogidos en una población sean diferentes, calculada así a partir de los genotipos observados en una muestra poblacional (Tripp, 2009).

3.7.2 La heterocigosidad esperada (H_e) Es la medida más completa para evaluar la variabilidad presente en cada locus en una población en relación al número de heterocigotos. La heterocigosidad esperada mide la igualdad o equidad de las frecuencias alélicas en los loci (Hoelzel, 1998; Sosa *et al.*, 2002). Condicionada por el valor de su frecuencia. Cuando las poblaciones están bajo equilibrio Hardy-Weinberg, la heterocigosidad logra ser calculada a partir de la frecuencia alélica.

3.8 Índice de endogamia

También conocido como coeficiente de fijación (F_{is}) es una estimación de la endogamia en una población por el apareamiento con individuos relacionados o emparentados entre sí. F_{is} puede variar de 1 a -1; pudiendo ser un valor positivo que indique de un deterioro en la heterocigosis y un valor negativo considerado como una exuberancia de heterocigóticos en la población con relación a las proporciones deseadas en el equilibrio de Hardy-Weinberg (Hartl, 1997; Caujapé, 2006).

3.9 Equilibrio de Hardy-Weinberg

El equilibrio de Hardy-Weinberg, asume como población ideal un modelo hipotético y establece que las frecuencias de los alelos permanecen constantes de una generación a otra (Iniasta, 2005). Acorde a los siguientes supuestos: el cruzamiento es aleatorio, la composición genética debe permanecer en equilibrio mientras no haya mutaciones, migraciones o selección natural (Frankham *et al.*, 2009).

3.10 Deriva genética

La deriva génica es un cambio en las frecuencias alélicas de una población, que ocurre de generación en generación y debido a que las poblaciones son finitas en número, las frecuencias génicas pueden cambiar por un puro proceso de azar, de modo que las especies con mayor diversidad genética tiene mayores posibilidades de colonizar un rango más amplio de ambientes y de responder evolutivamente a esos cambios (Ferrière *et al.*, 2004; Hunter y Gibbs, 2007).

3.11 Cuello de botella

El efecto de cuello de botella genético es cuando una población ha sufrido un fuerte descenso en el número de individuos como resultado de un cambio desfavorable y brusco en las condiciones ambientales (Taboada *et al.*, 2015). Ya que provoca una selección aguda de los alelos más frecuentes que tienden a fijarse en los individuos sobrevivientes, mientras que los menos frecuentes o raros disminuyen o desaparecen por completo (Klug *et al.*, 2006)



Figura 4. OpenStax College,. (s. f.). Cuello de botella [Ilustración]. <https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/natural-selection/population-genetics/a/genetic-drift-founder-bottleneck>

3.12 Efecto fundador

Se considera la formación de una población a partir de unos pocos individuos. Esto podría ocurrir en muchas situaciones, como el establecimiento de una nueva población de unos pocos individuos “fundadores” que proceden de una población originaria y donde dichos individuos “fundadores” sólo llevan una pequeña porción de la variabilidad genética de la población originaria. Así, la nueva población fundadora podría poseer una estructura de alelos muy desigual en comparación a la población originaria debido a que su información genética proviene de una pequeña parte de dicha población (Muñoz, 2009).

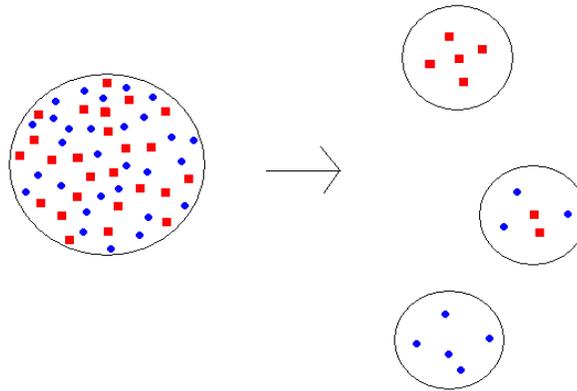


Figura 5. Qz10. (2006, 27 septiembre). Efecto fundador [Ilustración]. <https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/natural-selection/population-genetics/a/genetic-drift-founder-bottleneck>

3.13 Endogamia

La endogamia se refiere al apareamiento de individuos relacionados, lo que significa que tienen uno o más antepasados en común. Cuanto más cercano sea el parentesco entre dos animales, mayor es el porcentaje de consanguinidad en la progenie resultante (Ralls *et al.*, 2013). Esto ha de tener grandes consecuencias sobre la estructura genética de la población, ya que este suceso tiende a incrementar la porción de homocigotos, con un descenso de la frecuencia de heterocigotos.

Por ende, todos estos conceptos son importantes para comprender cómo la diversidad genética se comporta bajo ciertos escenarios, por ejemplo,

poblaciones reducidas en tamaño y aisladas son más susceptibles al efecto de la endogamia y la deriva genética, así mismo, poblaciones cautivas tienden a ser más susceptibles debido al efecto que produce el confinamiento y cruces selectivos que conllevan a una mayor pérdida de la diversidad genética. Por lo tanto, la cuantificación de la variabilidad genética como un indicador del potencial adaptativo y de las relaciones genéticas entre grupos de poblaciones, es un importante paso para establecer procesos de depresión endogámica, reducciones recientes en el tamaño poblacional (cuellos de botella), y ruptura en el flujo de genes (DeSalle y Amato, 2004).

3.14 Técnica RAD-seq

La variabilidad genética se estima mediante el uso de la técnica molecular denominada secuenciación de marcadores de ADN asociados a sitios de restricción RAD-Seq (por su sigla en inglés *Restriction site Associated DNA Sequencing*), la cual consiste en el corte del ADN genómico mediante el uso de enzimas de restricción específicas, las cuales pueden ser seleccionadas de acuerdo con su frecuencia de corte para la reducción del genoma deseado; esto permite jugar con la posibilidad de obtener una menor cantidad de marcadores con una mayor profundidad del genoma y viceversa (López de Heredia, 2016).

Los fragmentos cortados son ligados a adaptadores específicos los cuales harán posible la secuenciación masiva mediante su acople a plataformas Illumina, previo a un proceso de amplificación (PCR) con el fin de obtener la cantidad de ADN suficiente para su cobertura y/o representatividad (Baird *et al.*, 2008). Esta técnica permite obtener miles de nuevos marcadores polimórficos informativos útiles para mapeos genéticos, sin la necesidad de tener genomas de referencia; es eficiente y de bajo costo para realizar estudios poblacionales (Reitzel *et al.*, 2013).

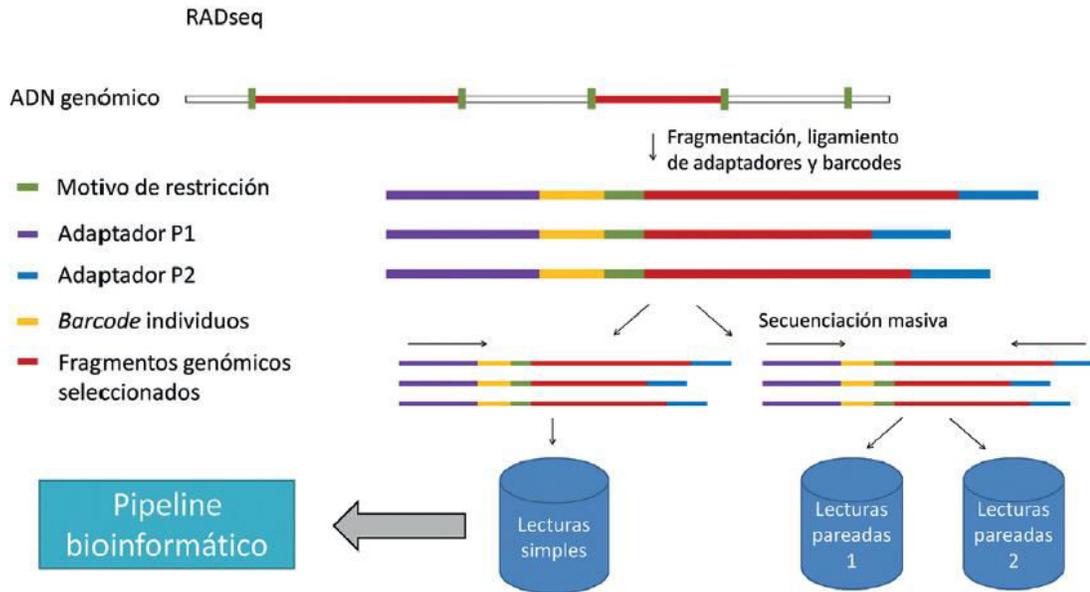


Figura 6. Lopez de Heredia. (2016, enero). Esquema de la metodología de genotipado RAD-seq [Ilustración]. <https://www.researchgate.net/publication/311689618>

4. Materiales y Métodos

4.1 Área de estudio

El área de estudio se llevó a cabo en la estación piscícola de Gigante - AUNAP (Huila), la cual está geográficamente localizada a los 0°55'16" de latitud Norte y 74' 25" de longitud Este, cuenta con un área total 29 hectáreas y 5.5 ha en espejo de agua. Se halla situada aproximadamente a 3 Km del municipio de Gigante, en el departamento del Huila, a 960 m.s.n.m. Cuenta con una temperatura promedio de 24 °C y precipitación de 1250 mm al año (ICA, 2019).

4.2 Fase de campo

4.2.1 Marcaje de animales y toma de muestras

Para la marcación, se usaron 262 peces (82 bocachicos, 95 capaz y 85 pataló) los cuales, fueron sedados siendo inmersos en aproximadamente 0,5 mg/L de eugenol disuelto en 10 litros de agua, entre 60 a 120 segundos o hasta la pérdida parcial del nado. Dicha marcación se realizó de forma subcutánea en la zona media dorsal del ejemplar. Para ello, se usó un aplicador con diámetro de punta de 2,15 mm, dotado de un Glass-transponder de 12 mm de largo y un ancho de 2.12 mm aproximadamente, el cual fue provisto de un microchip identificado con

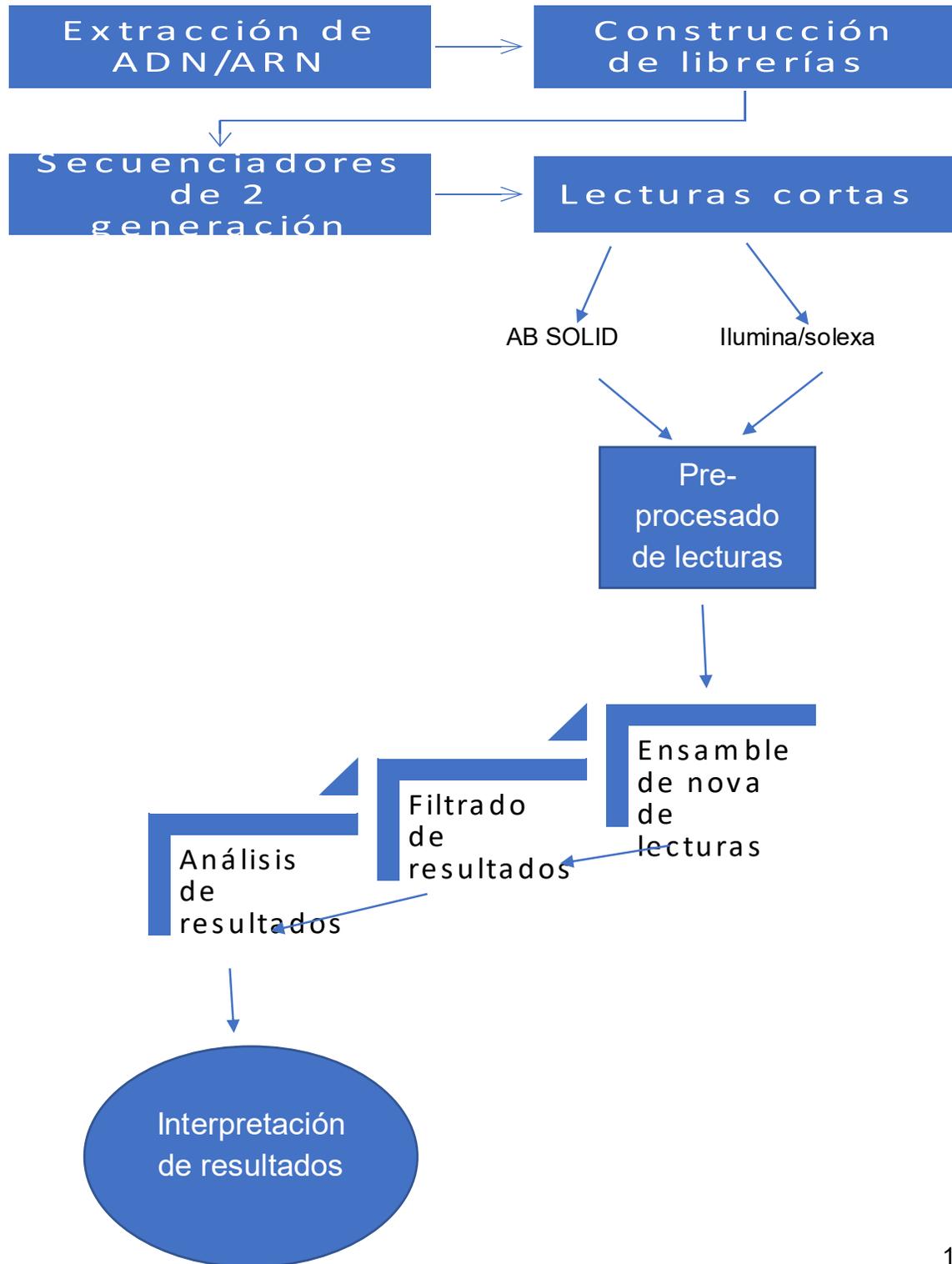
un código alfanumérico que permitirá identificar cada ejemplar por medio de un lector electrónico PetScan, sin necesidad de tener contacto directo con el reproductor.



Figura 7. De Luque (2019, julio). Glass-Transponders, aplicador y lector electrónico PetScan.

Para los análisis genéticos, se les tomó una muestra de tejido correspondiente a la aleta caudal (1 cm) a los reproductores actuales de la estación piscícola, dicha muestra se fijó con etanol de calidad molecular, en un tubo eppendorf previamente rotulado, con el fin de evitar la degradación del ADN. Posterior a la inserción y corte de la aleta caudal, se efectuó una profilaxis, la cual consistió en la aplicación de Isodine solución disuelto en agua, en las posibles heridas ocasionadas para evitar que los ejemplares contraigan algún tipo de infección bacteriana. Las muestras fueron transportadas al laboratorio de genética molecular de la Universidad del Magdalena (sede principal), donde estuvieron organizadas y preservadas a una temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.3 Fase de laboratorio



Las muestras obtenidas fueron enviadas al laboratorio Australian Genome Research Facility Ltd. (Melbourne, Australia) para su procesamiento y obtención de datos genómicos; el cual consistió la preparación de las librerías mediante la técnica de doble digestión de sitios de restricción asociados al ADN (*ddRAD: Double digest restriction-site associated DNA*) usando el protocolo propuesto por (Peterson *et al.*, 2012) e incluyendo los siguientes pasos:

4.3.1 Digestión con enzimas de restricción

Digestión de ADN usando un set de seis enzimas (PstI, MspI, MseI, NlaIII, HpyCh4IV, EcoRI) y realizando una preparación de ocho bibliotecas de doble digestión (PstI/MspI, PstI/MseI, PstI/NlaIII, PstI/HpyCh4IV, EcoRI/MspI, EcoRI/MseI, EcoRI/NlaIII y EcoRI/HpyCh4IV) a partir de un conjunto de tres muestras representativas en cada especie. El propósito para la preparación de estas librerías es evitar las regiones repetidas que aparecen como una banda en el gel y como un pico en el electroferograma, idealmente debería haber un perfil uniforme dentro de la ventana de selección de tamaño (280 pb - 342 pb o 280 pb - 375 pb). La presencia de una región de repetición dentro de la ventana de selección de tamaño puede reducir la cantidad de SNPs que pueden ser llamados mediante línea de comandos. Cuando hubo múltiples combinaciones que producen un perfil aceptable, se seleccionó la combinación que presentaba el nivel más alto de amplificación. Esta selección del tamaño de contigs ligados digeridos combinados se seleccionó utilizando el método Blue Pippin.

4.3.2 Preparación de librerías y secuenciación de genomas

Las bibliotecas usadas para secuenciación genómica de cada especie se generaron en Australian Genome Research Facility Ltd (AGRF) y las librerías preparadas para ese propósito se desarrollaron mediante el protocolo TruSeq Nano PCR-Free. La secuenciación se llevó a cabo en una plataforma NovaSeq 6000 en una configuración de ambos sentidos usando contigs de 150 pb. La calidad de los "reads" se verificó con FastQC. Los datos sin procesar recibidos fueron procesados por el pipeline de bioinformática STACKS v2 (Rochette *et al.*, 2019) para la detección de SNP.

4.3.3 Ensamblaje *de novo* de genomas

Las secuencias se demultiplexaron y filtraron para obtener la mejor calidad de datos, se realizó en el programa STACK a través del comando 'process_radtags' en STACKS v2 (Catchen *et al.*, 2011). Se eliminó cualquier par de lecturas con bases incorrectas y un puntaje de baja calidad y/o un código de barras o sitio de

corte con más de una falta de coincidencia utilizando "'process_radtags'. En ausencia de un genoma de referencia, los loci RAD se ensamblaron de novo utilizando la opción 'denovo_map' en STACKS (Catchen *et al.*, 2011). Al ser muestras de doble secuencia se usó el comando “-paired”, para asociar la secuencia hermana de doble lectura. Se realizaron múltiples alineaciones basadas en diferentes valores de parámetros críticos en STACKS.

Para los análisis principales en este estudio, se realizaron combinaciones de llamadas de variantes de secuencia con parámetros de programa predeterminados con la excepción del: 1) número de desajustes permitidos entre loci dentro de los individuos (-M) para el “ustacks”, 2) la profundidad mínima de cobertura requerida para crear los agrupamientos (-m) y 3) el número de desajustes permitidos entre loci dentro del catálogo (-n) para “cstacks” (Tabla 1). Además, en el mapeo de novo, el último paso se realizó utilizando el componente de poblaciones de STACKS. Incluimos un porcentaje mínimo de individuos en las poblaciones requeridos para procesar un locus (-R = 0.8) equivalente al 80% y una frecuencia de alelo menor (MAF) (--min_maf = 0.02) para crear el archivo de genotipo filtrado final.

Tabla 1. Parámetros usados en STACKS por cada especie después de estandarización RADtaq.

Especie	M	m	n
capaz	5	3	3
pataló	4	3	2
bocachico	5	3	2

Para minimizar los efectos negativos de los datos faltantes al calcular los parámetros de distancia genética basados en la frecuencia, solo se retuvo un único SNP en cada locus (--write_single_snp). El archivo vcf resultante se utilizó para los análisis genómicos de poblaciones y para la elaboración de estadígrafos. Adicionalmente, se convirtió y filtró el archivo usando varios paquetes en el programa R, PERL (vcftools) y PHYTON (Jombart, 2008; Danecek *et al.*, 2011; Catchen *et al.*, 2013; R Core Team, 2019).

4.3.4 Análisis de la diversidad genética grupal e individual

Las propiedades genéticas básicas de cada especie y los grupos genéticos se evaluaron y describieron utilizando los estadísticos clásicos en genética de poblaciones tales como heterocigosidad observada (H_o), esperada (H_e) y coeficientes de endogamia (F_{is}) generados con el programa STACKS (Catchen *et al.*, 2013; Rochette *et al.*, 2019).

Con el fin de determinar si la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) es producto del exceso o de la deficiencia de heterocigotos, se prueba la hipótesis alterna por medio de una prueba en los paquetes DIVERSITY, POPPR y ADEGENET en el programa R (Jombart, 2008; Kamvar *et al.*, 2014; Keenan y Keenan, 2015).

4.3.5 Estructura genética de los lotes de reproductores

Para determinar la existencia de diferenciación significativa en cuanto a la distribución de la variabilidad genética entre los individuos mantenidos en los lotes de reproductores, se estimó el índice de fijación F_{ST} de Wright (1978), entre cada uno de los reproductores muestreados utilizando el método propuesto por Jombart *et al.*, (2010). El DAPC se transformó con los datos previos al PCA y posteriormente aplicó un proceso de análisis discriminante (Jombart y Collins, 2015) que se expresó de manera gráfica.

5. Resultados

5.1 Variabilidad genética Global de los lotes de Reproductores

Se encontró un polimorfismo del 100% en todos los loci evaluados para las tres especies seleccionadas en este estudio. En la tabla 2, se resumen los parámetros de diversidad genética estimados para las especies de bocachico, capaz y pataló en la estación piscícola a través del uso de la técnica de RAD sequencing.

Con respecto a los datos proporcionados en la Tabla 2, se puede observar que la especie que generó mayor cantidad de sitios variantes fue el pataló con 13.048. A pesar de lo anterior, esta no fue la especie que presentó los mayores valores de heterocigosidad observada (Ho). La especie con mayor variabilidad genética fue el capaz, siendo el bocachico la especie que presentó los valores más bajos.

Tabla 2. Parámetros globales de diversidad genética en las especies de bocachico, capaz y pataló, en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila).

Especie	Sitios	Sitios Variantes	% polimorfismo	Ho	He	Endogamia
capaz	579777	2057	0,35479	0,00055	0,00061	0,00041
pataló	4973865	13048	0,26233	0,00083	0,00076	-0,00019
bocachico	36713	33	0.08444	0,00011	0,00009	0,00001

En forma general, para los sistemas de reproductores evaluados se puede observar que los valores de heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He) son muy similares para cada especie de la estación piscícola. Este aspecto es importante debido a que la similitud entre el Ho y el He puede ser un indicativo de una buena condición genética de los animales y/o reproductores seleccionados. Por otro lado, un aspecto importante a considerar es el valor de endogamia en los sistemas de reproductores seleccionados, para lo cual se logró evidencia que este índice presentó valores bajos (Tabla 2).

5.2 Variabilidad genética individual de los lotes de reproductores

- **Pataló**

En la especie nativa de pataló, el índice de variabilidad genética observada (H_o), osciló entre 0.059 a 0.3, con valor promedio de 0.29. En la figura 9, se pueden evidenciar los valores de H_o para el grupo de reproductores de pataló (Anexo 1).

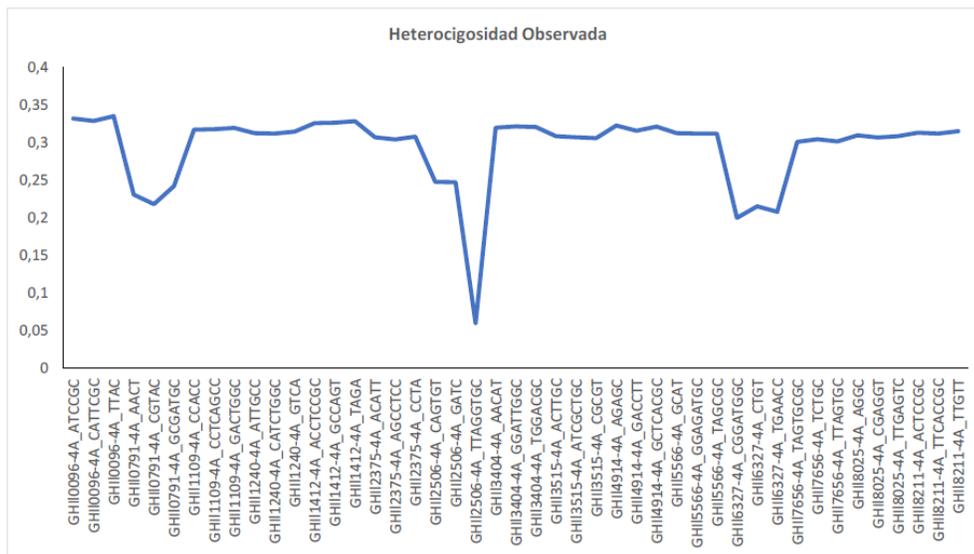


Figura 8: Variación de la diversidad genética individual (H_o) en los reproductores de pataló en la estación piscícola de Gigante - AUNAP (Huila).

- **Bocachico**

Para la especie de bocachico, se evidenció que varios de los animales seleccionados en el estudio, presentaron niveles muy bajos para el índice de H_o , presentándose así una oscilación muy amplia entre los menores y mayores valores registrados para este índice en los animales. A pesar de lo anterior, en términos generales se pudo evidenciar que pocos animales mostraron buenos valores para el índice H_o en esta población (Anexo 3), de acuerdo con lo descrito por (Saenz-Agudelo *et al.*, 2015).

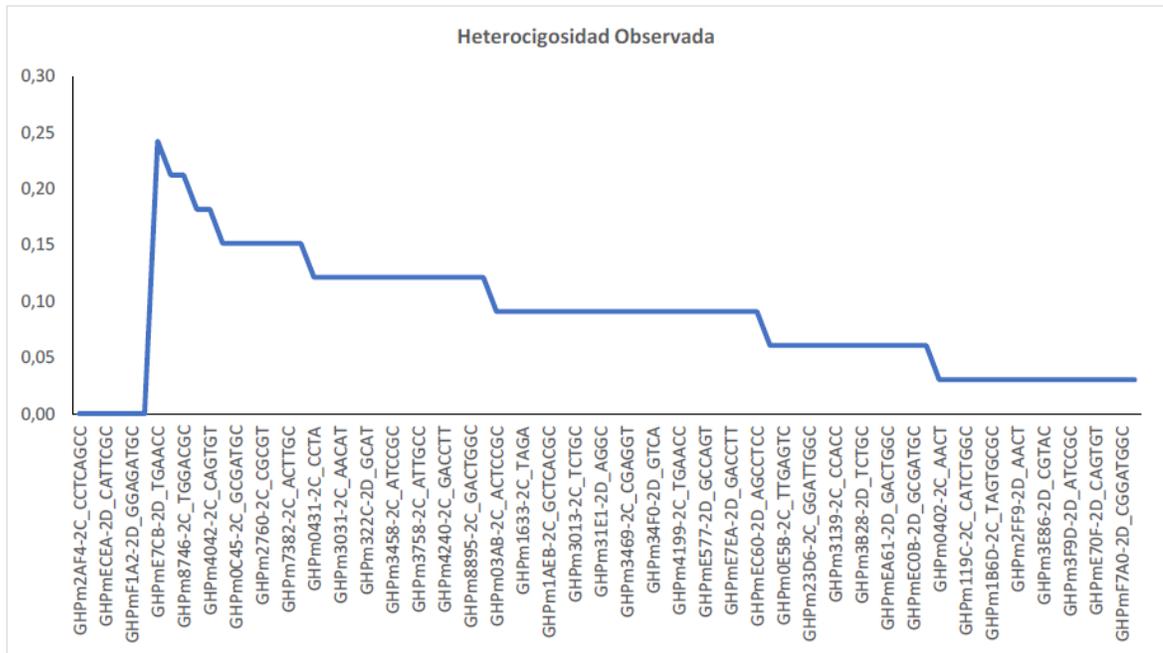


Figura 9. Variación de la diversidad genética individual (H_o) en los reproductores de bocachico en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila).

- **Capaz**

Para la especie capaz, se presentaron de manera global los valores más altos de diversidad genética (Tabla 2). Sin embargo, de manera individual podemos observar cómo fue la oscilación de este índice en la población para esta especie. Se pudo evidenciar que esta varió entre 0.07 a 0.17 entre el menor y el mayor valor registrado para este índice. Lo anterior indica que esta especie presenta bajos valores de diversidad genética.

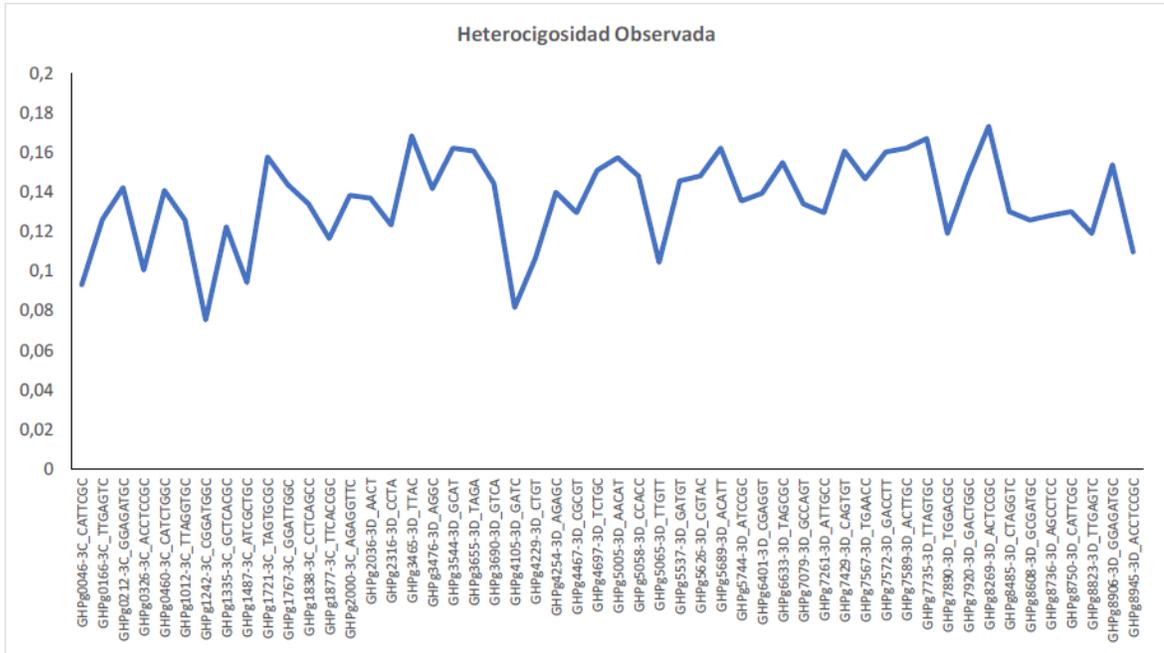


Figura 10. Variación de la diversidad genética individual (H_o) en los reproductores de capaz en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila).

5.3 Equilibrio de Hardy-Weinberg en los lotes de reproductores

Para las muestras de los reproductores analizados, se pudo evidenciar que, para las especies de bocachico, capaz y pataló en la estación piscícola de Gigante - AUNAP (Huila), se presentaron desviaciones del equilibrio de H-W ($P < 0.0001$). De acuerdo con los resultados de variabilidad genética, es probable que esta desviación este asociada principalmente a un déficit de heterocigotos, en las especies en la estación piscícola, y esto puede verse reflejado en los bajos valores de heterocigosidad. Por lo tanto, la hipótesis nula de apareamiento al azar que plantea el modelo fue rechazada para las especies consideradas. En el Anexo 2, se puede evidenciar los resultados de la prueba por loci evaluado y su valor de significancia.

5.4 Estructura genética de los lotes de reproductores

Entre los análisis más comunes para comprender la distribución de diversidad genética en poblaciones, está el análisis de componentes principales (PCoA) basado en los datos estimados a partir del cálculo del índice de F_{st} . De acuerdo con lo anterior, se pudo evidenciar que entre las especies muestreadas de capaz y pataló existe una tendencia clara de la conformación de tres clúster o tres poblaciones diferenciadas (Figura 11).

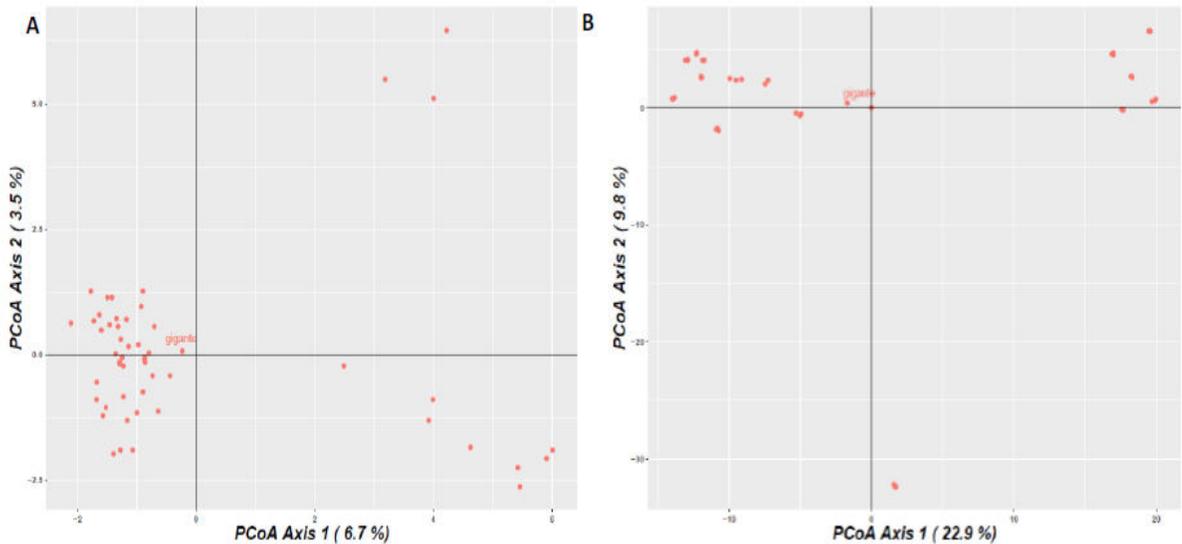


Figura 11. Distribución genética de los individuos en el PCoA en función de su diferenciación genética. A) capaz y B) pataló.

En el gráfico se puede evidenciar, el patrón de distribución de la variación genética dentro de las poblaciones de capaz y pataló: lo anterior indica que la distribución de la variabilidad genética en las poblaciones antes mencionadas no es homogéneo, basado en las agrupaciones de puntos en las gráficas ilustradas arriba. Estas agrupaciones de individuos se dan por la similitud genética existente entre ellos.

En primera instancia, se analizó la distribución de la diversidad genética de la población de bocachico a través de un PCoA, en el cual se pudo evidenciar que la población de bocachico en la estación piscícola se comportó como una sola unidad discreta (Figura 12). Sin embargo, cuando los genotipos de los individuos fueron analizados en el programa STRUCTURE para estimar el número de poblaciones genéticamente homogéneas (K) para esta especie, a diferencia de las especies de capaz y pataló, se pudo evidenciar que de acuerdo con el método

propuesto por (Evanno *et al.*, 2005) la presencia de dos clúster ($K=2$; Figura 13). Los colores mostrados en la gráfica confirman el porcentaje de asignación de los individuos a cada población, previamente definida a uno de los dos clúster generados por el programa.

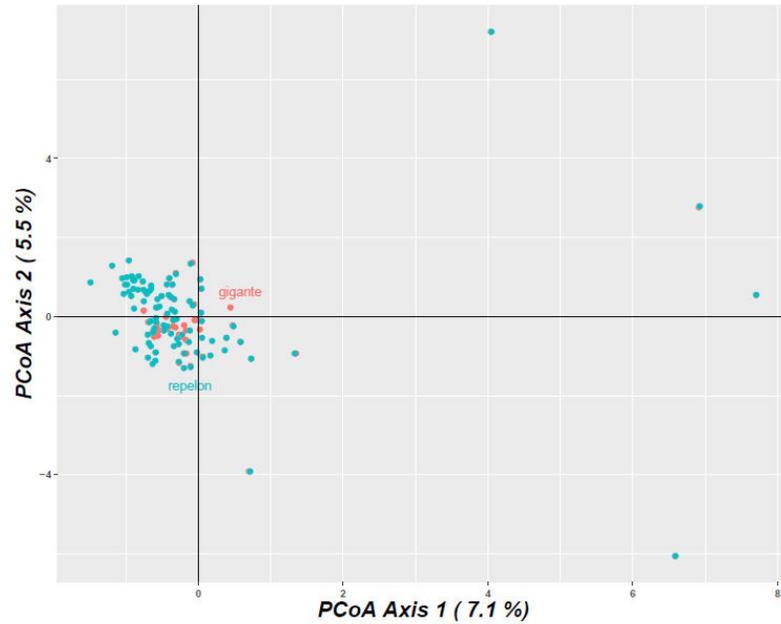


Figura 12. Distribución genética de los individuos de bocachico en el PCoA en función de su diferenciación genética.

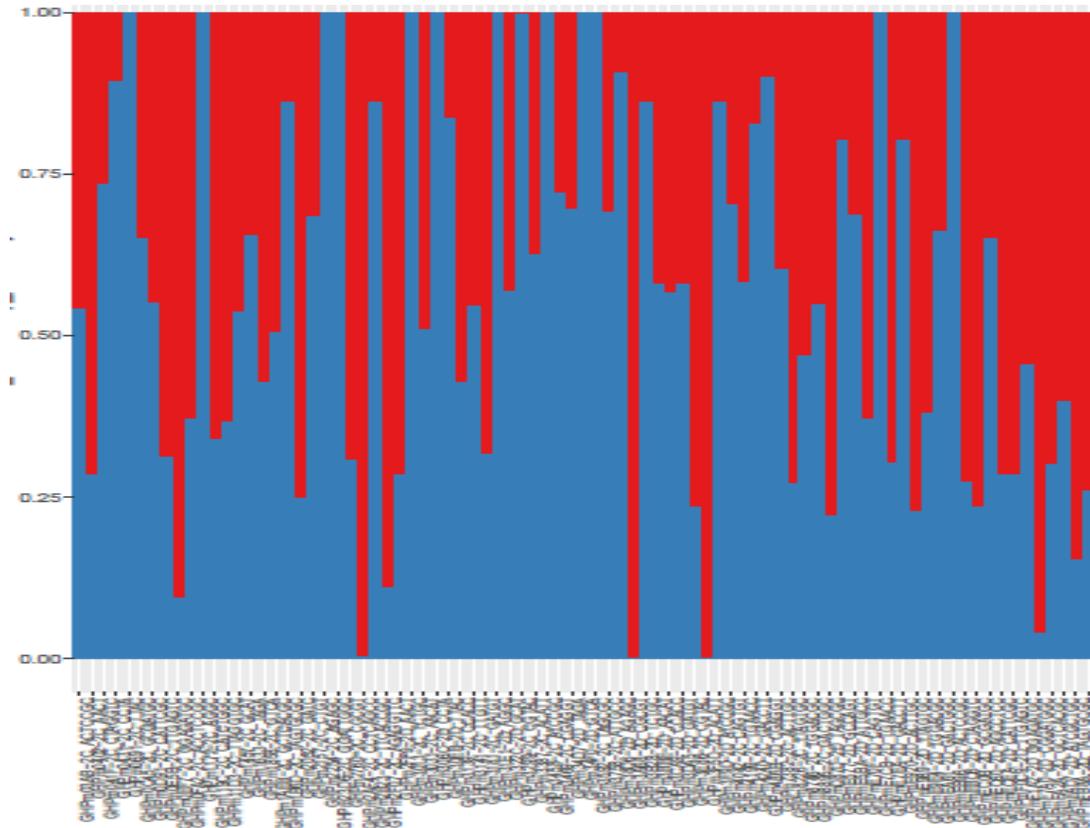


Figura 13: Gráfico *barrplot* con el más alto valor para Delta K ($K=2$), resultado del agrupamiento generado por el programa STRUSTRUCTURE para la estación piscícola de Gigante - AUNAP (Huila). Cada individuo de bocachico está representado por una barra vertical cuyo color indica el coeficiente de parentesco a cada uno de los clúster.

5.5 Criterios genéticos para seleccionar reproductores con fines de repoblamiento

Con miras a realizar programas de repoblación de las especies de capaz, pataló y bocachico, como medida de conservación de estas especies amenazadas, en esta investigación luego de conocer las características genéticas de los reproductores de manera grupal, se evaluó la variabilidad genética individual. Este aspecto es importante debido a que la variabilidad genética tiene un efecto sobre los parámetros de producción, observando que la fecundidad, tasa de fertilización, tasa de eclosión y supervivencia son condicionados por el nivel de heterocigosidad individual del reproductor (Jerez *et al.*, 2012; Torregroza *et al.*, 2015).

En este sentido, el criterio genético empleado para seleccionar los reproductores antes mencionados fue principalmente aquel que indicó que los animales tenían altos valores en cuanto a su variabilidad genética individual (H_o). Esta aproximación esta soportada en lo descrito por Torregroza *et al.*, (2015). Donde demuestra que, para la calidad genética de las progenies, entre más alto sea la heterocigosidad individual, esta proporciona a las progenies una mayor heterocigosidad observada (H_o) y una menor endogamia (Fis), asumiendo que la condición genética es dependiente de la condición genética del reproductor. De acuerdo con lo anterior, en el Anexo 3, se propone un listado con los animales que deben ser considerados a ser parte del sistema de reproductores. Aquí se debe incluir sólo un listado de los animales que sean considerados para cruces por tener una variabilidad moderada a alta ya explicar los cruces a realizar según el rango de la variabilidad seleccionado.

6. Discusión

El monitoreo de la variabilidad genética en las estaciones piscícolas es trascendental para preservar la capacidad de adaptación de las especies (Saura *et al.*, 2006) y garantizar el éxito en los programas de repoblamiento. En este sentido, el uso de marcadores moleculares como los SNP, permitieron revelar con alta eficiencia los alelos presentes en cada una de las especies estudiadas. Según (Lopera-Barrero *et al.*, 2007), para implementar programas de repoblación, lo principal es investigar la variabilidad genética de los reproductores mantenidos en cautiverio en las estaciones piscícolas y después evaluar genéticamente las progenies, ya que un mal manejo reproductivo puede ocasionar la pérdida significativa de variabilidad genética en tan solo una generación (Moreira, 2003; Porta *et al.*, 2006; Povh *et al.*, 2006).

En este sentido, la variabilidad encontrada (H_o) y los valores en el índice de fijación (F_{is}), pueden ser resultado de factores históricos que han afectado a las poblaciones en medio natural para el caso de las especies nativas, (Mojica *et al.*, 2012), previos al establecimiento de los sistemas de reproductores en cada estación piscícola. Lo antes mencionado, posiblemente esté relacionado con: 1) el efecto de la sobrexplotación pesquera (posibles cuellos de botella) a la que han sido sometidas estas especies durante décadas y que son revelados en las estadísticas pesqueras (poner datos pesqueros de disminución en sus abundancias); 2) los stocks de trabajo son una pequeña fracción de la población original del medio natural (cuellos de botella) y probablemente con individuos con pérdida de diversidad genética debido a lo expuesto en el punto anterior; y 3) el establecimiento de stocks son producto de un efecto fundador (endogamia) donde los individuos terminan emparentados debido al cruce sucesivo de los mismo individuos, lo que conlleva a una reducción en la variabilidad genética debido al bajo número de individuos usados para establecer los stocks de trabajo (Melo *et al.*, 2006). Los efectos de cuello de botella por sobrexplotación y fragmentación de las poblaciones en el medio natural influyen en la baja variabilidad genética asociada a la pérdida de los alelos (Orozco y Narváez, 2014). Esta reducción puede llevar a la pérdida de resistencia a enfermedades y de la capacidad de adaptabilidad (Taniguchi, 2003).

Al evaluar la diversidad de poblaciones en medio natural o en cautividad, es importante considerar la variabilidad genética individual ya que se pueden establecer, cuales reproductores presentan las mejores condiciones genéticas para realizar cruces dirigidos y producir semilla con fines de repoblación. Adicionalmente, se podría analizar la calidad genética de las larvas producidas; siendo este el procedimiento adecuado para corroborar que se está

proporcionando a la población en medio natural, la información adecuada para su recuperación genética (Machado-Schiaffino, 2007). Además, cada variante alélica en una población es importante porque puede ser tomada como parte de un recurso genético en dicha población, el cual puede ser el responsable y conferir a su portador una característica valiosa, como por ejemplo un aumento en la resistencia frente a alguna enfermedad, una mejor tolerancia al frío o mejor crecimiento (Beaumont y Hoare, 2003). Por ejemplo, comprender como se distribuyen las frecuencias alélicas de los individuos distribuidos en un área geográfica determinada, nos permitiría conocer si una población está conformada por un solo stock o no.

Torregroza *et al.*, (2015) evidenció baja variabilidad genética individual en reproductores de bocachico en una estación piscícola al norte de Colombia. Sin embargo, estos autores muestran que es posible un aumento de esta variabilidad en las progenies de bocachico posterior a un buen manejo reproductivo. Esto básicamente indica que los criterios genéticos deben ser tenidos en cuenta a la hora de hacer cruces selectivos con el fin de obtener progenies para programas de repoblamiento.

Este último aspecto es supremamente importante, debido a que la pérdida de variabilidad genética en los sistemas de reproductores en las estaciones piscícolas siempre es lo esperado cuando no hay un buen manejo genético de los lotes de reproductores. Lo anterior es ocasionado por el cruzamiento de individuos emparentados, lo que consecuentemente puede aumentar el coeficiente de endogamia (Kang *et al.*, 2006; Ortega *et al.*, 2006) y reducir el número efectivo de reproductores (N_e) (Melo *et al.*, 2006), afectando la variabilidad genética (Povh *et al.*, 2005).

Con miras a realizar programas de repoblación como medida de manejo y conservación de las especies amenazadas como es el caso del capaz, pataló y bocachico, en esta investigación se dio a conocer las características genéticas de los reproductores, siendo un insumo importante debido a que esta influencia la producción y calidad genética de las larvas. Autores como Torregroza *et al.*, (2015) demuestran el efecto de la variabilidad sobre la producción, donde se pudo observar que los parámetros reproductivos tales como fecundidad, tasa de fertilización, tasa de eclosión y supervivencia son afectados por el nivel de heterocigosidad individual del reproductor.

Para la calidad genética, se hipotetiza que el nivel más alto de heterocigosidad individual proporciona a las progenies una mayor heterocigosidad observada (H_o) y una menor endogamia (F_{is}), asumiendo que la condición genética es dependiente de la condición genética del reproductor. En este sentido, se

proporcionó un listado de los reproductores para las tres especies con los mayores valores de diversidad genética para los futuros cruces con miras a la realización de repoblamientos en la cuenca donde estos peces habitan.

Así mismo los lineamientos enmarcados en sistemas de repoblamiento deberían incluir: i) una caracterización de las poblaciones naturales para conocer su variabilidad genética y grado de estructuración o aislamiento poblacional, a partir de esta información se podría decidir donde coleccionar los individuos usados para el establecimiento del sistema de parentales para dicho propósito, pero también, definir qué poblaciones del medio natural se debe priorizar en los programas de repoblamiento y su afinidad genética para no cometer errores de translocación de genes adaptativos; ii) determinar el nivel de variabilidad genética y los mejores individuos a ser cruzados para mantener o mejorar la ya existente en la población; iii) caracterizar la variabilidad genética en la progenie obtenida, esto con el fin de conocer si los cruces realizados y los niveles de variabilidad genética si funciona; iv) verificar que el nivel de variabilidad genética y la identidad de la progenie usada para repoblar una determinada población es la más oportuna, como descrito en el punto i); y v) verificar cada 2 o 5 generaciones máximo si el programa de repoblamiento fue útil y tuvo el efecto esperado mediante estudios de caracterización genética de las poblaciones objeto de manejo y conservación.

7. Conclusiones

La población de reproductores de las especies bocachico, capaz y pataló en la estación piscícola evidenciaron una variabilidad genética muy baja; sin embargo, se verificó que con los reproductores seleccionados se puede recuperar la variabilidad de la población natural debido a potencial genético observado con los altos valores de heterocigosidad esperada. La pérdida de variabilidad genética en los reproductores en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila). Pudo ser causada por varias razones: efecto fundador, efecto de selección en los procesos de reproducción, y de un cuello de botella reciente; factores que reflejan el estado genético de las localidades naturales donde fueron capturados.

Los individuos óptimos para formar los nuevos lotes de reproductores de las especies nativas en las estaciones piscícolas deben tener una heterocigosidad observada (H_o) mayor o igual a 0.18 para los SNP. Sin embargo, este criterio no fue restrictivo en los lotes analizados y se pudo identificar que los reproductores deben manifestar valores superiores de 0.10.

8. Bibliografía

Agostinho, A., Thomaz, SM., y Gomes, L. (2005). Conservação de biodiversidade em águas continentais do Brasil. *Mega diversidade* 1:70-78.

Ayazo Genes, J., Pertuz Buelvas, V., Espinosa Araujo, J., Jiménez Velásquez, C., García, V. A., y Prieto Guevara, M. (2018). Desempeño de bocachico *prochilodus magdalenae* en sistemas intensivos de producción con tecnología biofloc. *Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 16(1), 91-101. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v16n1.1149>

Beaumont, A., y Hoare, K., (2003). Consideraciones genéticas en el criadero. En *Biotecnología y Genética en Pesca y Acuicultura*. Blackwell Science: Oxford, Reino Unido, 2003; pag. 73–90

Bouzat, J. (2010). Conservation Genetics of Population Bottlenecks: The role of chance, selection, and history. *Conservation Genetics* 11: 463-478.

Caicedo, K., y Prado, A. (2014). Caracterización alimenticia de la especie íctica entre el municipio de Suarez y el puente la salsa departamento del cauca Colombia, agroecología: ciencia y tecnología. Volumen 2 No. 1.

Catchen, J., Hohenlohe, P., Bassham, S., Amores, A., y Cresko, A. (2013). Stacks: An analysis tool set for population genomics. *Mol. Ecol.* 22: 3124–3140.

Catchen, M., Amores, A., Hohenlohe, P., Cresko, W., Postlethwait, J., y De Koning, D. (2011). Stacks: Building and Genotyping Loci De Novo From Short-Read Sequences. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 1: 171–182.

Caujapé-Castells, J. (2006). *Brújula para Bótanicos Desorientados en la Genética de Poblaciones*. Exegen Ediciones. Gran Canaria, España.

Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C., Banks, E., y DePristo, A. (2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics* 27: 2156–2158.

Cortés, M. (2003). *Guía básica, cría y conservación del bocachico: Prochilodus magdalenae* 75 steindachner. Editorial, Santa Fe de Bogotá: Convenio Andrés Bello. Pag. 6-15.

Coltman D., Bowen, W., y Wright, J. (1998). El peso al nacer y la supervivencia neonatal de las crías de foca común se correlacionan positivamente con la variación genética medida por microsatélites *Proc. R. Soc. Lond. B.* 265 803–809

Dahl, G. (1971). *Los peces del norte de Colombia*. Bogotá (Colombia): Instituto de Desarrollo de los Recursos Naturales Renovables, (Inderena), Talleres Litografía Arco. p. 391.

DeSalle, R., y Amato, G. (2004). The Expansion of Conservation Genetics. *Nature Reviews Genetics* 5: 702-712.

Donoso, C., Premoli, A., Gallo, L., y Ipinza, R. (2004). Variación intraespecífica en las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Editorial Universitaria. Pag. 23 -37

Frankham, R., Ballou, J., y Briscoe, D. (2009). *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press. Cambridge, UK.

FAO/PNUMA. (1984). Conservación de los recursos genéticos de los peces: problemas y recomendaciones. Informe de la Consulta de Expertos sobre los recursos genéticos de los peces. FAO Doc.Téc.Pesca, (217):42 p.

Ferrière, R., Dieckmann, U. y Couvet, D. (2004) *Evolutionary conservation biology*. Cambridge Univ Pr

Guttmacher AE, y Collins, F. (2002). Genomic medicine-a primer. *N Engl J Med*. 347:1512-20.

Hatanaka, T., Henrique, F., y Galetti, P. (2006). Population substructuring in a migratory freshwater fish *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the São Francisco River. *Genetica*, Dordrecht, v. 126(1-2: p. 153-159.

Hänfling, B., y Brandl, R. (1998). Diferenciación genética de la cabeza de toro *Cottus gobio* L. a través de cuencas hidrográficas en Europa Central: evidencia de dos taxones. *Heredity* 80, 110-117.

Hartl, D., y Clark. (1997). *Principles of Population Genetics*. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Massachusetts, USA.

Hoelzel, A. (1998). *Molecular Genetic Analysis of Populations: A practical approach*. IRL Press at Oxford University Press. New York, USA.

Hunter, M., y Gibbs, J. (2007) *Fundamentals of conservation biology*. Wiley-Blackwell.

Instituto colombiano agropecuario-ICA. Estación piscícola del Magdalena alto-Gigante-Huila. ica.gov.co/getdoc/3c75d067-7f91-434a-b09e-07e470f0700b/estacion-piscicola-de-gigante.aspx.

Iniesta, R, Guinó, E, y Moreno, V. (2005). Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gaceta Sanitaria*, 19(4), 333-341.

Jombart, T., y Collins, C. (2015). Un tutorial para el análisis discriminante de componentes principales (dapc) usando adegenet 2.0.0

Jombart, T., Devillard, S., y Balloux, F. (2010). Análisis discriminante de componentes principales: un nuevo método para el análisis de poblaciones genéticamente estructuradas. *BMC Genet* **11**:94.

Jombart, T. (2008). Adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* **24**: 1403–1405.

Kamvar, Z., Tabima, J., y Grünwald, N. (2014). Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* **2**: e281. PeerJ Inc

Kang, J., Noh, J., Kim, J., Lee, J., Kim, H., y Kim, K. (2006). Genetic Relationship Between Broodstocks of Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel) Using Microsatellite Markers. *Aquac Res.* **37**(7):701-707.

Keenan, A., y Keenan, M. (2015). Package “diversity”.

Klug, W., Cummings, M., y Spencer, C. (2006). *Conceptos de Genética*. 8 edición. Editoriales Pearson. Madrid. España.

Lawrence, E., Valcarce, R., y Nuño, F. (2003). *Diccionario Akal de términos biológicos*. Ediciones AKAL. ISBN 844601582X, 9788446015826,

López de Heredia, U. (2016). Las técnicas de secuenciación masiva en el estudio de la diversidad biológica. *Munibe Ci Nat* **64**: 7-31. <https://doi.org/10.21630/mcn.2016.64.07>

Lopera-Barrero, N., Ribeiro, R., Sirol, R., Povh, A., Gomes, P., Vargas, L., y Streit, D. (2006). Genetic diversity in Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) with the RAPD (Random amplified polymorphic DNA) markers. *Journal Animal Science*, **84**:170-170.

Machado-Schiaffino, G., Dopico, E., y Garcia, E. (2007). Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding, *Aquaculture*, Volume 264, Issues 1–4

Maldonado-Ocampo, P. (2005). *Peces de los Andes de Colombia*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Editorial Ramos López, Bogotá.

Melo, D., Oliveira D., Ribeiro L., Teixeira, C., Sousa, A., y Coelho, E. (2006). Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilápia (*Oreochromis*) utilizando marcadores microssatélites. *Arq Bras Med Vet Zootec.* **58**(1):87-93.

Mojica, J., Usma, J., Álvarez-León, R., y Lasso, C. (2012). Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia 2(012). 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., Colombia. Pág. 319.

Mojica, J., Castellanos, C., Usma, S., y Álvarez, R. (2002). *Libro rojo de los peces dulceacuícolas de Colombia*. La serie libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia.

Moreno, C. (2001). Métodos para medir la biodiversidad. Zaragoza, España: CYTED, ORCYT/UNESCO y SEA. <http://www.seaentomologia.org/PDF/M&TSEA01.pdf>

Moreira, HL., Zimmermann, S., Ribeiro, R., Bastos, R., Vargas, L., y Povh, A. (2003). The use of RAPD (Random amplified polymorphism DNA) for genetic monitoring in breeding programs of tilapia. *World Aquaculture*, Salvador, Brasil. Pág. 460.

Muñoz, J. (2009). Implicaciones de la dispersión actual e histórica para la biología evolutiva y conservación de *Artemia* y otros invertebrados acuáticos con estadio de diapausa, Trabajo de investigación; a para optar al título de Doctor en Biología por la Universidad de Sevilla. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=140212>

Olaya–Nieto, C., Segura–Guevara, F., Bru–Cordero, S., y Blanco–Viellar, H. (2003). Biología reproductiva del bocachico (*Prochilodus magdalenae* Steindachner 1878) en el río Sinú (Colombia). *Revista II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura CIVA 2003*:723–734.

Ortega, M., Aritaki, M., y Taniguchi, N. (2006). Pedigree Analysis of Recaptured Fish in the Stock Enhancement Program of Spotted Halibut *Verasper Variegates*. *Fish Sci.* 72(1):48-52.

Orozco, G., y Narvaez, J. (2014). Diversidad genética y estructura poblacional del bocachico *Prochilodus magdalenae* (Piscis, Prochilodontidae) en la cuenca del río Magdalena y sus afluentes, Colombia. *Genética y Biología Molecular*, 37 (1), 37-45

Peterson, B., Weber, J., Kay, E., Fisher, H., y Hoekstra, H. (2012). Double Digest RADseq: un método económico para el descubrimiento y genotipado de SNP de novo en especies modelo y no modelo. *PLoS ONE*, 7 (5), art. No. e37135.

- Perdomo-Aguirre, Y., Cruz-Flor, W., Espinosa-León, L., y Carrillo-Avila, M. (2014). Caracterización genética de *Ichthyoelephas longirostris* de los ríos La Miel y Ranchería usando marcadores microsatélites. *ORINOQUIA*, 18(1):173-182.
- Piñero, D. (2008). La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. México. Pág. 437-494.
- Povh, JA., Lopera-Barrero, N., Ribeiro, R., Lupchinski, E., Gomes, P., y Lopes, T. (2008). Genetic monitoring of fish repopulation programs using molecular markers. *Ciencia e investigación agraria*. 35(1), 5-15.
- Povh, J., Ribeiro., Sirol, A., Mangolin, C., Gasparino, E., Lopera-Barrero, N., Gomes, P., Streit, D., y Vargas, L. (2006) Importância do monitoramento genético pela utilização de marcadores moleculares na piscicultura. Tese de doutorado. CD-ROM. In: *AquaCiência*, Bento Gonçalves, Brasil (Resumo).
- Povh, J., Moreira, H., Ribeiro, R., Prioli, A., Vargas, L., y Blanck, D. (2005). Estimativa da variabilidade genética em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com a técnica de RAPD. *Acta Sci An Sci*, 27(1):1-10.
- R Core Team. (2019). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ralls, K.; Frankham, R.; y Ballou, J. (2013). Inbreeding and Outbreeding. *Encyclopedia of Biodiversity 2 Edición*. Oxford, UK
- Roman-Valencia, C., y Ortiz-Muñoz, V. (2001). Sobre la reproducción de *Ichthyoelephas longirostris* (Pisces, Prochilodontidae) en la cuenca del Río Magdalena, Colombia. *Dahlia Revista de Asociacion colombiana de Ictiología*, 4:33-35.
- Rivas, T., Conto, B., Puentes, E., Cuesta, E., Mena, M., Ramírez, A., Blandón, M., Casas, Y., Carrascal, O., y Rivas, W. (2002). Estado actual de la pesca en la cuenca media del río Atrato, Choco – Colombia. *Revista Universidad Tecnológica del Chocó*, 15: 25–32.
- Rochette, N., Rivera-Colón, A., y Catchen, J. (2019). Stacks 2: Analytical methods for paired-end sequencing improve RADseq-based population genomics. *Mol. Ecol.* 28: 4737–4754.

Saura, M., Caballero, P., Caballero, A., y Moran, R. (2006). Genetic variation in restored Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) populations in the Ulla and Lézrez rivers, Galicia, Spain. *ICES Journal of Marine Science* 63:1290-1296.

Saenz-Agudelo, P., Dibattista, J., Piatek, M., Gaither, R., Harrison, H., y Nanninga, G. (2015). Seascape genetics along environmental gradients in the Arabian Peninsula: insights from ddRAD sequencing of anemonefishes. *Mol. Ecol.* 24, 6241–6255.

Sosa, P., González, M., Moreno, C., y Clarke, J. (2010). Conservation of the Endangered Endemic *Sambucus palmensis* Link (Sambucaceae) from the Canary Islands. *Conservation Genetics* 11: 2357-2368.

Torregroza-Espinosa, A., Narváez-Barandica, J., y Orozco-Berdugo, 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):187-192.

Taniguchi, N. (2003). Genetic factors in broodstock management for seed production. *Reviews Fish Biology and Fisheries*, 13:175-185

Tripp, M. (2009). Estima la probabilidad, en organismos con cruzamiento al azar, de que dos alelos escogidos en una población sean diferentes; Trabajo de investigación para culminar el programa de maestro en ciencias; centro de investigaciones del noroeste. https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/274/1/tripp_m.pdf

Valbuena, V., Zapata, B., Ruales, C., y Cruz-Casallas, P, (2012). Desarrollo embrionario del capaz *Pimelodus grosskopfii* (Steindachner, 1879). *Int. J. Morphol.*, 30(1):150-156.

Villa, F. (1999). Estudio biológico pesquero de la represa de Prado para la determinación de especies promisorias en acuicultura. Presentado a Universidad del Tolima, Cortolima, Inpa, Gobernación del Tolima y Comité Departamental de Cafeteros del Tolima. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia.

9. Anexos

ANEXO 1. Tabla de Variabilidad genética individual de los reproductores de pataló en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila).

Estación	Espécimen	Código ID	Heterocigosidad Observada
Gigante	1	GHII0096-4A_ATCCGC	0,33
Gigante	2	GHII0096-4A_CATTCGC	0,33
Gigante	3	GHII0096-4A_TTAC	0,34
Gigante	4	GHII0791-4A_AACT	0,23
Gigante	5	GHII0791-4A_CGTAC	0,22
Gigante	6	GHII0791-4A_GCGATGC	0,24
Gigante	7	GHII1109-4A_CCACC	0,32
Gigante	8	GHII1109-4A_CCTCAGCC	0,32
Gigante	9	GHII1109-4A_GACTGGC	0,32
Gigante	10	GHII1240-4A_ATTGCC	0,31
Gigante	11	GHII1240-4A_CATCTGGC	0,31
Gigante	12	GHII1240-4A_GTCA	0,31
Gigante	13	GHII1412-4A_ACCTCCGC	0,33
Gigante	14	GHII1412-4A_GCCAGT	0,33
Gigante	15	GHII1412-4A_TAGA	0,33
Gigante	16	GHII2375-4A_ACATT	0,31
Gigante	17	GHII2375-4A_AGCCTCC	0,30
Gigante	18	GHII2375-4A_CCTA	0,31
Gigante	19	GHII2506-4A_CAGTGT	0,25
Gigante	20	GHII2506-4A_GATC	0,25
Gigante	21	GHII2506-4A_TTAGGTGC	0,06
Gigante	22	GHII3404-4A_AACAT	0,32
Gigante	23	GHII3404-4A_GGATTGGC	0,32
Gigante	24	GHII3404-4A_TGGACGC	0,32

Gigante	25	GHII3515-4A_ACTTGC	0,31
Gigante	26	GHII3515-4A_ATCGCTGC	0,31
Gigante	27	GHII3515-4A_CGCGT	0,31
Gigante	28	GHII4914-4A_AGAGC	0,32
Gigante	29	GHII4914-4A_GACCTT	0,32
Gigante	30	GHII4914-4A_GCTCACGC	0,32
Gigante	31	GHII5566-4A_GCAT	0,31
Gigante	32	GHII5566-4A_GGAGATGC	0,31
Gigante	33	GHII5566-4A_TAGCGC	0,31
Gigante	34	GHII6327-4A_CGGATGGC	0,20
Gigante	35	GHII6327-4A_CTGT	0,22
Gigante	36	GHII6327-4A_TGAACC	0,21
Gigante	37	GHII7656-4A_TAGTGCGC	0,30
Gigante	38	GHII7656-4A_TCTGC	0,30
Gigante	39	GHII7656-4A_TTAGTGC	0,30
Gigante	40	GHII8025-4A_AGGC	0,31
Gigante	41	GHII8025-4A_CGAGGT	0,31
Gigante	42	GHII8025-4A_TTGAGTC	0,31
Gigante	43	GHII8211-4A_ACTCCGC	0,31
Gigante	44	GHII8211-4A_TTCACCGC	0,31
Gigante	45	GHII8211-4A_TTGTT	0,32
Gigante	46	GHII1109-4A_GACTGGC	0,06
Gigante	47	GHII1240-4A_ATTGCC	0,32
Gigante	48	GHII1240-4A_CATCTGGC	0,32
Gigante	49	GHII1240-4A_GTCA	0,32
Gigante	50	GHII1412-4A_ACCTCCGC	0,31
Gigante	51	GHII1412-4A_GCCAGT	0,31
Gigante	52	GHII1412-4A_TAGA	0,31
Gigante	53	GHII2375-4A_ACATT	0,32
Gigante	54	GHII2375-4A_AGCCTCC	0,32
Gigante	55	GHII2375-4A_CCTA	0,32
Gigante	56	GHII2506-4A_CAGTGT	0,31
Gigante	57	GHII2506-4A_GATC	0,31
Gigante	58	GHII2506-4A_TTAGGTGC	0,31
Gigante	59	GHII3404-4A_AACAT	0,20

Gigante	60	GHII3404-4A_GGATTGGC	0,22
Gigante	61	GHII3404-4A_TGGACGC	0,21
Gigante	62	GHII3515-4A_ACTTGC	0,30
Gigante	63	GHII3515-4A_ATCGCTGC	0,30
Gigante	64	GHII7656-4A_TAGTGCGC	0,31
Gigante	65	GHII7656-4A_TCTGC	0,31
Gigante	66	GHII7656-4A_TTAGTGC	0,31
Gigante	67	GHII8025-4A_AGGC	0,20
Gigante	68	GHII8025-4A_CGAGGT	0,22
Gigante	69	GHII8025-4A_TTGAGTC	0,21
Gigante	70	GHII8211-4A_ACTCCGC	0,30
Gigante	71	GHII8211-4A_TTCACCGC	0,30
Gigante	72	GHII8211-4A_TTGTT	0,22
Gigante	73	GHII1109-4A_GACTGGC	0,24
Gigante	74	GHII1240-4A_ATTGCC	0,32
Gigante	75	GHII1240-4A_CATCTGGC	0,32
Gigante	76	GHII8025-4A_TTGAGTC	0,32
Gigante	77	GHII8211-4A_ACTCCGC	0,31
Gigante	78	GHII8211-4A_TTCACCGC	0,31
Gigante	79	GHII8211-4A_TTGTT	0,31
Gigante	80	GHII1109-4A_GACTGGC	0,33
Gigante	81	GHII1240-4A_ATTGCC	0,33
Gigante	82	GHII1240-4A_CATCTGGC	0,33
Gigante	83	GHII8025-4A_TTGAGTC	0,31
Gigante	84	GHII8211-4A_ACTCCGC	0,30
Gigante	85	GHII1109-4A_GACTGGC	0,31

ANEXO 2. Tabla de Variabilidad genética individual de los reproductores de capaz en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila).

Estación	Espécimen	Código ID	Heterocigosidad Observada
Gigante	1	GHPg0046-3C_CATTCGC	0,093339815
Gigante	2	GHPg0166-3C_TTGAGTC	0,126397667
Gigante	3	GHPg0212-3C_GGAGATGC	0,142440447
Gigante	4	GHPg0326-3C_ACCTCCGC	0,100631988
Gigante	5	GHPg0460-3C_CATCTGGC	0,140982013
Gigante	6	GHPg1012-3C_TTAGGTGC	0,125911522
Gigante	7	GHPg1242-3C_CGATGGC	0,075352455
Gigante	8	GHPg1335-3C_GCTCACGC	0,122508508
Gigante	9	GHPg1487-3C_ATCGCTGC	0,094312105
Gigante	10	GHPg1721-3C_TAGTGCGC	0,157997083
Gigante	11	GHPg1767-3C_GGATTGGC	0,143898882
Gigante	12	GHPg1838-3C_CCTCAGCC	0,134175984
Gigante	13	GHPg1877-3C_TTCACCGC	0,116674769
Gigante	14	GHPg2000-3C_AGAGGTTC	0,138551288
Gigante	15	GHPg2036-3D_AACT	0,137092854
Gigante	16	GHPg2316-3D_CCTA	0,123480797
Gigante	17	GHPg3465-3D_TTAC	0,16869227
Gigante	18	GHPg3476-3D_AGGC	0,141954302
Gigante	19	GHPg3544-3D_GCAT	0,162372387
Gigante	20	GHPg3655-3D_TAGA	0,160913952
Gigante	21	GHPg3690-3D_GTCA	0,144385027
Gigante	22	GHPg4105-3D_GATC	0,081672338
Gigante	23	GHPg4229-3D_CTGT	0,106465727
Gigante	24	GHPg4254-3D_AGAGC	0,140009723
Gigante	25	GHPg4467-3D_CGCGT	0,129800681
Gigante	26	GHPg4697-3D_TCTGC	0,151191055
Gigante	27	GHPg5005-3D_AACAT	0,157510938
Gigante	28	GHPg5058-3D_CCACC	0,148274186
Gigante	29	GHPg5065-3D_TTGTT	0,104521147
Gigante	30	GHPg5537-3D_GATGT	0,145843461
Gigante	31	GHPg5626-3D_CGTAC	0,148274186
Gigante	32	GHPg5689-3D_ACATT	0,162372387
Gigante	33	GHPg5744-3D_ATCCGC	0,135634419

Gigante	34	GHPg6401-3D_CGAGGT	0,139523578
Gigante	35	GHPg6633-3D_TAGCGC	0,155080214
Gigante	36	GHPg7079-3D_GCCAGT	0,134175984
Gigante	37	GHPg7261-3D_ATTGCC	0,129800681
Gigante	38	GHPg7429-3D_CAGTGT	0,160913952
Gigante	39	GHPg7567-3D_TGAACC	0,146815751
Gigante	40	GHPg7572-3D_GACCTT	0,160427807
Gigante	41	GHPg7589-3D_ACTTGC	0,162372387
Gigante	42	GHPg7735-3D_TTAGTGC	0,167233836
Gigante	43	GHPg7890-3D_TGGACGC	0,119105493
Gigante	44	GHPg7920-3D_GACTGGC	0,148274186
Gigante	45	GHPg8269-3D_ACTCCGC	0,173553719
Gigante	46	GHPg8485-3D_CTAGGTC	0,130286825
Gigante	47	GHPg8608-3D_GCGATGC	0,125911522
Gigante	48	GHPg8736-3D_AGCCTCC	0,128342246
Gigante	49	GHPg8750-3D_CATTCGC	0,130286825
Gigante	50	GHPg8823-3D_TTGAGTC	0,119105493
Gigante	51	GHPg8906-3D_GGAGATGC	0,154107924
Gigante	52	GHPg8945-3D_ACCTCCGC	0,109868741
Gigante	53	GHPg1838-3C_CCTCAGCC	0,134175984
Gigante	54	GHPg1877-3C_TTCACCGC	0,116674769
Gigante	55	GHPg2000-3C_AGAGGTTC	0,138551288
Gigante	56	GHPg2036-3D_AACT	0,137092854
Gigante	57	GHPg2316-3D_CCTA	0,123480797
Gigante	58	GHPg3465-3D_TTAC	0,16869227
Gigante	59	GHPg3476-3D_AGGC	0,141954302
Gigante	60	GHPg3544-3D_GCAT	0,162372387
Gigante	61	GHPg3655-3D_TAGA	0,160913952
Gigante	62	GHPg3690-3D_GTCA	0,144385027
Gigante	63	GHPg4105-3D_GATC	0,081672338
Gigante	64	GHPg4229-3D_CTGT	0,106465727
Gigante	65	GHPg4254-3D_AGAGC	0,140009723
Gigante	66	GHPg4467-3D_CGCGT	0,129800681
Gigante	67	GHPg4697-3D_TCTGC	0,151191055
Gigante	68	GHPg5005-3D_AACAT	0,157510938
Gigante	69	GHPg5058-3D_CCACC	0,148274186
Gigante	70	GHPg5065-3D_TTGTT	0,104521147
Gigante	71	GHPg5537-3D_GATGT	0,145843461
Gigante	72	GHPg5626-3D_CGTAC	0,148274186
Gigante	73	GHPg1838-3C_CCTCAGCC	0,134175984
Gigante	74	GHPg1877-3C_TTCACCGC	0,116674769
Gigante	75	GHPg2000-3C_AGAGGTTC	0,138551288

Gigante	76	GHPg2036-3D_AACT	0,137092854
Gigante	77	GHPg2316-3D_CCTA	0,123480797
Gigante	78	GHPg3465-3D_TTAC	0,16869227
Gigante	79	GHPg3476-3D_AGGC	0,141954302
Gigante	80	GHPg3544-3D_GCAT	0,162372387
Gigante	81	GHPg3655-3D_TAGA	0,160913952
Gigante	82	GHPg3690-3D_GTCA	0,144385027
Gigante	83	GHPg4105-3D_GATC	0,081672338
Gigante	84	GHPg2036-3D_AACT	0,137092854
Gigante	85	GHPg2316-3D_CCTA	0,123480797
Gigante	86	GHPg3465-3D_TTAC	0,16869227
Gigante	87	GHPg3476-3D_AGGC	0,141954302
Gigante	88	GHPg3544-3D_GCAT	0,162372387
Gigante	89	GHPg3655-3D_TAGA	0,160913952
Gigante	90	GHPg3690-3D_GTCA	0,144385027
Gigante	91	GHPg4105-3D_GATC	0,081672338
Gigante	92	GHPg4229-3D_CTGT	0,106465727
Gigante	93	GHPg4254-3D_AGAGC	0,140009723
Gigante	94	GHPg4467-3D_CGCGT	0,129800681
Gigante	95	GHPg4697-3D_TCTGC	0,151191055

ANEXO 3. Tabla de Variabilidad genética individual de los reproductores de bocachico en la estación piscícola del Alto Magdalena-AUNAP (Gigante, Huila).

Estación	Espécimen	Código ID	Heterocigosidad Observada
Gigante	1	GHPm2AF4-2C_CCTCAGCC	0
Gigante	2	GHPm3A68-2D_CGCGT	0
Gigante	3	GHPmECEA-2D_CATTTCGC	0
Gigante	4	GHPmF0C9-2D_TTGAGTC	0
Gigante	5	GHPmF1A2-2D_GGAGATGC	0
Gigante	6	GHPmFB8A-2D_TAGTGCGC	0
Gigante	7	GHPmE7CB-2D_TGAACC	0,24
Gigante	8	GHPm2254-2C_AGAGC	0,21
Gigante	9	GHPm8746-2C_TGGACGC	0,21
Gigante	10	GHPm0691-2C_TTAC	0,18
Gigante	11	GHPm4042-2C_CAGTGT	0,18
Gigante	12	GHPm041F-2C_CTAGGTC	0,15
Gigante	13	GHPm0C45-2C_GCGATGC	0,15
Gigante	14	GHPm1172-2C_AGGC	0,15
Gigante	15	GHPm2760-2C_CGCGT	0,15
Gigante	16	GHPm30EB-2D_TTAC	0,15
Gigante	17	GHPm7382-2C_ACTTGC	0,15
Gigante	18	GHPmE9E4-2D_TGGACGC	0,15
Gigante	19	GHPm0431-2C_CCTA	0,12
Gigante	20	GHPm1457-2C_GCAT	0,12
Gigante	21	GHPm3031-2C_AACAT	0,12
Gigante	22	GHPm306C-2D_CCTA	0,12
Gigante	23	GHPm322C-2D_GCAT	0,12
Gigante	24	GHPm3299-2C_CGTAC	0,12
Gigante	25	GHPm3458-2C_ATCCGC	0,12
Gigante	26	GHPm3592-2C_TAGCGC	0,12
Gigante	27	GHPm3758-2C_ATTGCC	0,12
Gigante	28	GHPm3CA9-2D_CCACC	0,12
Gigante	29	GHPm4240-2C_GACCTT	0,12
Gigante	30	GHPm486B-2D_CGAGGT	0,12
Gigante	31	GHPm8895-2C_GACTGGC	0,12
Gigante	32	GHPmE920-2D_ACTTGC	0,12
Gigante	33	GHPm03AB-2C_ACTCCGC	0,09
Gigante	34	GHPm0FA2-2C_ACCTCCGC	0,09

Gigante	35	GHPm1633-2C_TAGA	0,09
Gigante	36	GHPm1858-2C_GTCA	0,09
Gigante	37	GHPm1AEB-2C_GCTCACGC	0,09
Gigante	38	GHPm2157-2C_CTGT	0,09
Gigante	39	GHPm3013-2C_TCTGC	0,09
Gigante	40	GHPm3141-2C_TTGTT	0,09
Gigante	41	GHPm31E1-2D_AGGC	0,09
Gigante	42	GHPm3387-2C_ACATT	0,09
Gigante	43	GHPm3469-2C_CGAGGT	0,09
Gigante	44	GHPm34D7-2D_TAGA	0,09
Gigante	45	GHPm34F0-2D_GTCA	0,09
Gigante	46	GHPm38D6-2D_AGAGC	0,09
Gigante	47	GHPm4199-2C_TGAACC	0,09
Gigante	48	GHPm8226-2C_TTAGTGC	0,09
Gigante	49	GHPmE577-2D_GCCAGT	0,09
Gigante	50	GHPmE5BA-2D_ATTGCC	0,09
Gigante	51	GHPmE7EA-2D_GACCTT	0,09
Gigante	52	GHPmEB96-2D_ACTCCGC	0,09
Gigante	53	GHPmEC60-2D_AGCCTCC	0,09
Gigante	54	GHPm0D91-2C_CATTCCG	0,06
Gigante	55	GHPm0E5B-2C_TTGAGTC	0,06
Gigante	56	GHPm2052-2C_GATC	0,06
Gigante	57	GHPm23D6-2C_GGATTGGC	0,06
Gigante	58	GHPm2B23-2C_TTCACCGC	0,06
Gigante	59	GHPm3139-2C_CCACC	0,06
Gigante	60	GHPm3181-2C_GATGT	0,06
Gigante	61	GHPm3B28-2D_TCTGC	0,06
Gigante	62	GHPm3BBE-2D_AACAT	0,06
Gigante	63	GHPmEA61-2D_GACTGGC	0,06
Gigante	64	GHPmEBC6-2D_CTAGGTC	0,06
Gigante	65	GHPmEC0B-2D_GCGATGC	0,06
Gigante	66	GHPmFAD7-2D_ATCGCTGC	0,06
Gigante	67	GHPm0402-2C_AACT	0,03
Gigante	68	GHPm0EF7-2C_GGAGATGC	0,03
Gigante	69	GHPm119C-2C_CATCTGGC	0,03
Gigante	70	GHPm11D3-2C_TTAGGTGC	0,03
Gigante	71	GHPm1B6D-2C_TAGTGCGC	0,03
Gigante	72	GHPm2F07-2C_AGAGGTTC	0,03
Gigante	73	GHPm2FF9-2D_AACT	0,03
Gigante	74	GHPm3DA5-2D_GATGT	0,03
Gigante	75	GHPm3E86-2D_CGTAC	0,03
Gigante	76	GHPm3F5D-2D_ACATT	0,03

Gigante	77	GHPm3F9D-2D_ATCCGC	0,03
Gigante	78	GHPmD87D-2D_TAGCGC	0,03
Gigante	79	GHPmE70F-2D_CAGTGT	0,03
Gigante	80	GHPmE989-2D_TTAGTGC	0,03
Gigante	81	GHPmF7A0-2D_CGGATGGC	0,03
Gigante	82	GHPmFA2A-2D_GCTCACGC	0,03