



## INFORME TÉCNICO

Niveles de variabilidad genética y coeficientes de parentesco de cada reproductor muestreado y marcado de pirarucú (arapaima gigas).



**AUNAP**  
AUTORIDAD NACIONAL  
DE ACUICULTURA Y PESCA

"Acuicultura y Pesca con Responsabilidad"





Hacemos grande la Acuicultura  
en el Caquetá



"Acuicultura y Pesca con Responsabilidad"

## INFORME TÉCNICO DE LOS NIVELES DE VARIABILIDAD GENÉTICA Y COEFICIENTES DE PARENTESCO DE CADA REPRODUCTOR MUESTREADO Y MARCADO DE PIRARUCÚ (*arapaima gigas*)

Equipo de autores y colaboradores

® ASOCIACIÓN DE ACUICULTORES DEL CAQUETA - ACUICA	® AUTORIDAD NACIONAL DE ACUICULTURA Y PESCA - AUNAP
Karly Milena Camacho Trujillo <sup>1</sup> Diego Alejandro Niño Camacho <sup>2</sup> Jorge Eduardo Franco Páez <sup>3</sup>	María Rosa Angarita Peñaranda Carlos Augusto Borda Pedro Julián Contreras Javier Plata González Jairo Andrés Saganome

Esta publicación, es un producto resultado del convenio de cooperación No. 208 de 2019 cuyo objeto: *Establecer mediante el sexo y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de Pirarucú (arapaima gigas) en el departamento de Caquetá y de la acuicultura estratégicas del país*, suscrito entre LA AUTORIDAD NACIONAL DE ACUICULTURA Y PESCA – AUNAP Y ASOCIACIÓN DE ACUICULTORES DEL CAQUETÁ - ACUICA en el año 2019.

Camacho-Trujillo, K., Niño-Camacho, D. Franco-Páez J. (2019). Informe técnico de los niveles de variabilidad genética y coeficientes de parentesco de cada reproductor muestreado y marcado de pirarucú (*arapaima gigas*). Convenio 208 de 2019 AUNAP-ACUICA. 32p

®Todos los derechos reservados. Se autoriza la reproducción y difusión de material contenido en este documento para fines educativos u otros fines no comerciales, sin previa autorización del titular de los derechos de autor, sí y solo sí, se reconocen los créditos de los autores, editores e instituciones que han elaborado el presente documentos.

Las líneas de delimitación, así como los mapas que pudieran presentarse dentro de la publicación, son una representación gráfica aproximada, con fines ilustrativos y no expresan una posición de carácter oficial, por ende, ni los autores ni las instituciones vinculada, asumen la responsabilidad de las interpretaciones que surjan a partir de estas.

"Se prohíbe la reproducción de este documento para fines comerciales"

Responsabilidad: Las denominaciones empleadas y la presentación del material en esta publicación, no implican la expresión de opinión o juicio alguno por parte de las instituciones participantes. Así mismo, las opiniones expresadas no representan necesariamente las decisiones o políticas de las instituciones participantes, ni la citación de nombres, estadísticas pesqueras o procesos comerciales. Todos los aportes y opiniones expresadas son de la entera responsabilidad de los autores correspondientes. Los documentos que componen este libro han sido editados con previa aprobación de sus autores.

<sup>1</sup>Zootecnista de la Universidad de la Amazonia Esp G.E.A De La Santo Tomas.

<sup>2</sup>Biólogo Marino, Msc En Ciencias Biológicas Universidad de los Andes

<sup>3</sup>Zootecnista la Universidad de la Amazonia Esp G.E.A De La Santo Tomas. Aspirante A Doctorado de la Universidad de la Amazonia

**CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA**

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá



Informe técnico de los niveles de variabilidad genética y coeficientes de parentesco de cada reproductor muestreado y marcado.

## CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

### INFORME TECNICO PROYECTO PIRARUCU ACUICA

Diego Alejandro Quiroga – Magister Ciencias Biologicas

Susana Caballero, Ph. D, Profesora Asociada, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes

Laboratorio de Ecología Molecular de Vetrebrados Acuáticos (LEMVA), Universidad de los Andes

### INTRODUCCION

*Arapaima gigas* es una de las más importantes especies de peces de la cuenca del Amazonas (Farias et al., 2003), conocido como pirarucú en Brasil o Paiche en Perú y Bolivia y es uno de los peces más grandes de Suramérica, el cual puede crecer hasta 3m y pesar más de 200kg (Saint-Paul, 1986; Castello, 2004).

La importancia económica de este pez es muy alta, siendo parte importante de la dieta de las comunidades que viven en la región Amazónica y siendo comercialmente importante desde el siglo 1XVIII siendo secado y salado para su venta (Hamoy et al., 2008; Hrbek et al., 2007). A pesar de una alta explotación, el *Arapaima gigas* fue abundante hasta los años 60s (Martinelli and Petreire Jr., 1999). Sin embargo, en los años 70s se volvió muy escaso y en los 80s se consideró extinto comercialmente en las grandes ciudades amazónicas (Goulding 1980). Debido a la sobrepesca, *Arapaima gigas* se encuentra listado en la Convención sobre el comercio internacional de especies amenazadas de fauna y flora silvestre (CITES) en el Apéndice II, y el conocimiento científico sobre sus poblaciones y su genética es muy poca (Farias et al., 2003; Hrbek et al., 2005).

El conocimiento de la diversidad genética tanto en poblaciones naturales como en cautiverio es una de las mejores formas de evaluar la viabilidad de una especie, y una manera de hacerlo es por medio de los marcadores microsatélites. Estos son pequeñas repeticiones de nucleótidos en tándem (STRs) los cuales consisten en repeticiones de uno a seis nucleótidos con sus propias características mutacionales (Kelkar et al., 2010; Weber & May, 1989). Dada su alta tasa de mutación tienden a ser altamente polimórficos, por lo



\*Acuicultura y Pesca con responsabilidad\*



## CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

tanto, han sido utilizados para estudios de parentesco, estructura genética, filogeografía, diversidad genética, entre otros (Baird et al., 2009; Caballero et al., 2012; Jones et al., 2010; Vollmer & Rosel, 2017).

El objetivo de esta investigación era establecer las diferentes relaciones de parentesco entre individuos de *A. gigas* criados en cautiverio y a la vez proponer parejas de reproductores entre individuos genéticamente no relacionados para aumentar la diversidad genética de la especie y tener un buen manejo de esta con los organismos en cautiverio.

### METODOLOGIA

#### Recolección de Muestras y Extracción de ADN

Se utilizaron muestras de tejido de aleta 146 individuos de Pirarucú (*Arapaima gigas*) las cuales fueron recolectadas en el año 2019 por la Asociación de Acuicultores del Caquetá (ACUICA) en diferentes granjas de productores de pirarucú o de individuos incautados y mantenidos en sus instalaciones. Estas muestras fueron almacenadas en tubos con alcohol al 80% posteriormente fueron congeladas a -20°C para su envío al laboratorio de ecología molecular de vertebrados acuáticos (LEMVA) donde fueron procesadas. De cada muestra se extrajo ADN total mediante el kit Nucleospin Tissue (Macherey-Nagel) siguiendo las instrucciones del fabricante.

#### Elección, estandarización y genotipificación del panel de Microsatélites

Los microsatélites seleccionados fueron previamente descritos para *Arapaima gigas* desarrollados por Farias. et al. (2003). Los locus seleccionados para utilizar en el análisis fueron aquellos que presentaran el mayor número de alelos y una temperatura de anillamiento similar para estandarizar de manera más fácil la amplificación de los microsatélites.

Se eligieron 11 loci microsatélites los cuales fueron amplificados: Cam26, Cam20, Ctm4, Ctm3, Cam2, Cam18, Cam15, Cam16, Ctm5, Ctm7, Cam13 (Farias et al., 2003). Los loci fueron divididos en dos grupos para su amplificación por medio de PCR (Tabla 1).

**CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA**

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

**Tabla 1.** Parejas de primers utilizadas en el análisis, según las combinaciones (multiplex) en las que se utilizaron para su corrida de genotipificación

Multiplex 1					
Locus	Secuencia Primer	Fluoromarcador	Anillamiento	Tamaño (bp)	Referencia
CAm26F	TGTA AACGACGGCCAGTACAGGGACCAGTAAGTGGCC	VIC	58°C	213 - 217	Farias., et al 2003
CAm26R	TGCCATAAGCACCGGGTAGG				
CAm20F	TGTA AACGACGGCCAGTGG AATGAGCAGGTTTCCCAG	NED	58°C	263 - 288	
CAm20R	CTCCCTCTTCTGACATGACG				
CTm4F	TGTA AACGACGGCCAGTTTTCCCGGACGAGAGAACTG	FAM	58°C	275 - 318	
CTm4R	TGTACCAAAGTGATGGAGAG				
CTm3F	TGTA AACGACGGCCAGTATCTGTTTGTGGGTCTCGAC	VIC	55°C	293 - 320	
CTm3R	TGTGAGGACAAGCTCCAGAG				
CAm2F	TGTA AACGACGGCCAGTAGCTCTCAGTACTGATGCTG	NED	58°C	295 - 340	
CAm2R	CCGATCATCTGTTTGCTCTG				
CAm18F	TGTA AACGACGGCCAGTTTACTGAGGGCAATGACACG	FAM	58°C	357 - 375	
CAm18R	TGATTACTCAGCAGGTCCTG				

**CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA**

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

Multiplex 2					
Locus	Secuencia Primer	Fluoromarcador	T° Anillamiento	Tamaño (bp)	Referencia
CAm15F	TGTA AACGACGGCCAGTGGCCTACATCAAGCACTTAA	FAM	58°C	226 - 244	Farias., et al 2003
CAm15R	TTACTGGGTTGAGTTTTGAC				
CAm16F	TGTA AACGACGGCCAGTCTCCTGGGCATCATGGGTAG	VIC	58°C	247 - 280	
CAm16R	TCTGTGTCTCCAGGCAACAG				
CTm5F	TGTA AACGACGGCCAGTGCAGCCCCAGTCTTGAAGG	NED	58°C	258 - 310	
CTm5R	AGCACGGTGAATATCTGTGC				
CTm7F	TGTA AACGACGGCCAGTCCTCTACTTCCTCAACCAGC	FAM	58°C	277 - 321	
CTm7R	CAGCACGGTGAATATCTGTG				
CAm13F	TGTA AACGACGGCCAGTTGAAAATCCTGTGGGACCTG	VIC	58°C	300 - 334	
CAm13R	CCTAAAAACACATCACACTG				

## CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

Cada reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó en un volumen de 13 µl: 7 µl de agua ultrapura, 1 µl de Buffer, 0.5 µl de Cloruro de magnesio, 0.04 µl del Primer Forward, 0.4 µl del primer Reverse, 0.4 µl del fluoromarcador (FAM, NED, VIC), 0.1 µl de dNTPs, 0.05 µl de Taq Polimerasa y 3.5 µl de ADN. Las condiciones de PCR fueron las siguientes: Activación inicial a 94°C por 2 min, seguido por 35 ciclos de denaturación a 94°C por 10 seg, anillamiento específico para los primers por 10 seg, extensión a 72°C por 30 seg, y una extensión final a 72°C por 60 min. Los productos fueron genotipificados en un analizador genético analizador genético ABI 3500 (Life technologies ®) con el Genescan 500 LIZ tamaño estándar, en el Laboratorio de Secuenciación de la Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

Para cada locus, los alelos fueron asignados usando el software Geneious (Versión 2020.2.4) (Kearse et al., 2012). A su vez, para cada locus se revisó la presencia de alelos nulos usando el software Micro-Checker (Versión 2.2.3) (Van Oosterhout et al., 2004). Con respecto a los análisis de paternidad, estimativos de diversidad genética (heterocigocidad observada/esperada) y equilibrio de Hardy-Weinberg se usó el software Cervus (Versión 3.0.7) (Kalinowski et al., 2007). Este programa se basa en una aproximación de máxima verosimilitud, primero realizando una simulación de la posibilidad de que un individuo sea el parental de otro usando un grupo de loci, esto determina unos índices de probabilidad para que al momento de correr los análisis con los datos reales se pueda dar un valor de probabilidad de identidad a la hora de realizar las asignaciones de parentesco. Entre más bajo es este valor indica que existe una menor probabilidad de identidad de que este individuo y otro sean considerados el mismo y en el caso del parentesco, quiere decir que existe una mínima posibilidad de que otro individuo sea el parental de una muestra en particular. El programa requiere la información de la proporción de parentales muestreados y la cantidad de loci evaluados, el programa otorga este valor. También se tomó otro enfoque usando el programa ML-RELATE (Kalinowski et al., 2006) el cual permite separar los individuos en cuatro unidades genealógicas: 1) Individuos que no están biológicamente relacionados (U). 2) Medio Hermanos (HF). 3) Hermanos (FS). 4) Relación Parental/Cría (POP), el cual calcula un estimador de relación con máxima verosimilitud (r) ya que este método tiende a ser el estimador más preciso (Milligan, 2003): Adicionalmente, una vez conocidas las relaciones de parentesco, se elifieron aquellos individuos machos y hembras no emparentados y por medio

## CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

del programa R (Rstudio Team., 2020) se generó un código que generaba un valor aleatorio para generar la pareja de reproductores entre estos.

### RESULTADOS:

- De los 146 individuos muestreados 54.4% (78) son machos y 46.6% son hembras (68).
- De los 11 loci microsatélites usados en el presente estudio, 8 de estos amplificaron y fueron utilizados en análisis posteriores (Tabla 6). Los otros 3 marcadores no amplificaron para ningún individuo (Cam18, Cam15, Ctm7).
- Se intentó realizar modificaciones al protocolo de PCR (Temperatura de anillamiento, medida del buffer/MgCl<sub>2</sub>) pero no se logró su amplificación de ninguna manera, lo cual podría indicar mutaciones en el sitio de anillamiento del primer.
- De los 8 marcadores analizados, cuatro de ellos presentaban alelos nulos, pero no se observó otra desviación sistemática (perdida de alelos o stutter) y estos fueron incluidos en los análisis posteriores (Tabla 6).
- En las pruebas de asignación de paternidad con Cervus, se realizaron tres diferentes análisis que nos permite el programa (Maternidad, paternidad y par de parentales).
- Para la asignación de madres el programa nos otorgo 17 posibles relaciones cría-madre de acuerdo con los datos genéticos, adicional a ello solo se seleccionaron las relaciones en las cuales había 100% de correspondencia en los 8 Loci analizados (Tabla 2).

## CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

**Tabla 2.** Parejas madre-cría establecidas por el programa Cervus

Cria ID	Madre Candidata ID	Loci Marcados	Par Loci Comparados	Errores (diferencias entre) Par de Loci
5	38	8	8	0
7	16	8	8	0
13	57	8	8	0
19	24	8	8	0
22	24	8	8	0
23	24	8	8	0
24	37	8	8	0
26	154	8	8	0
30	37	8	8	0
35	37	8	8	0
38	5	8	8	0
40	97	8	8	0
52	154	8	8	0
96	106	8	8	0
140	139	7	7	0
151	160	8	8	0
160	151	8	8	0

## CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

- Con respecto al análisis de parentesco observamos 12 posibles relaciones cría-padre de acuerdo con los datos genéticos, y al igual que en el anterior análisis solo si había 100% de correspondencia en los loci eran seleccionados (Tabla 3).

**Tabla 3.** Parejas padre cría establecidas por el programa Cervus

Cria ID	Padre Candidato ID	Loci Marcados	Par Loci Comparados	Errores (diferencias entre) Par de Loci
13	7	8	8	0
16	7	8	8	0
19	23	8	8	0
23	19	8	8	0
37	35	8	8	0
57	13	8	8	0
60	92	8	8	0
62	92	8	8	0
96	4	8	8	0
97	40	8	8	0
106	96	8	8	0
143	134	8	8	0

- Por último, en el análisis del par de parentales completo (Madre-Padre) se generaron 5 posibles relaciones cría – parental completo, y en este caso había que tener 100% de correspondencia en el trio de loci para generar la posible relación (Tabla 4).

## CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

**Tabla 4.** Parejas de padre- madre- cría establecidos utilizando el programa Cervus

Cria ID	Loci Marcados	Madre Candidata ID	Padre Candidato ID	Trio loci comparado	Errores Trio (diferencias) Loci
4	8	65	96	8	0
7	8	16	13	8	0
21	8	38	22	8	0
51	8	160	73	8	0
140	7	139	116	7	0

- Al conocer cuáles eran las posibles relaciones entre los individuos estos fueron descartados para generar los posibles cruces ya que el interés primordial es generar parejas de reproductores entre individuos genéticamente no relacionados, con el fin de mantener la diversidad genética estable y una población reproductora estable en el mediano plazo. Por esta razón, quedamos con 50 hembras y 61 machos para generar los respectivos cruces.
- Se usó ML-RELATE y el código generado en R en donde tomábamos una hembra y seleccionábamos aleatoriamente uno de los 61 machos disponibles y revisábamos cual era la relación entre estos dos individuos, si la relación era U (Individuos que no están biológicamente relacionados) se generaba una pareja de reproductores. Si la relación era HF, FS, PO (Medio hermanos, hermanos, relación Parental/Cría) se seleccionaba aleatoriamente otro macho hasta que los individuos no tuvieran ningún tipo de relación entre ellos (Tabla 5).

## CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

**Tabla 5.** Individuos establecidos como no emparentados, con los cuales se sugiere hacer los cruces.

Individuo	Sexo	Individuo	Sexo	Individuo	Sexo	Individuo	Sexo
1	F	135	M	93	F	81	M
3	F	45	M	98	F	113	M
6	F	9	M	104	F	29	M
12	F	127	M	109	F	2	M
18	F	153	M	110	F	107	M
20	F	114	M	117	F	42	M
27	F	122	M	124	F	95	M
32	F	54	M	128	F	11	M
36	F	78	M	129	F	87	M
39	F	155	M	131	F	77	M
41	F	123	M	133	F	8	M
44	F	15	M	136	F	63	M
46	F	14	M	138	F	66	M
47	F	25	M	145	F	72	M
48	F	169	M	147	F	130	M
56	F	58	M	149	F	126	M
59	F	33	M	150	F	71	M
69	F	17	M	156	F	31	M
70	F	28	M	159	F	49	M
79	F	83	M	161	F	111	M
82	F	115	M	162	F	141	M
84	F	53	M	165	F	108	M
85	F	80	M	166	F	157	M
86	F	34	M	167	F	144	M
88	F	142	M	168	F	10	M

- Con respecto a la diversidad genética (Tabla 6) esta es baja con respecto a la encontrada en otros estudios (Farias et al., 2003; Hamoy et al., 2008), siendo en promedio para todos los loci de 0.43 en nuestro panel de 8 microsatélites y de 0,62 y 069 en promedio para estos estudios que utilizan microsatélites para medir la diversidad genética a partir de muestras provenientes de individuos

## CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

silvestres. La diversidad genética en este caso se mide en una escala de 0 – 1, por lo tanto, podemos observar como la diversidad genética en las muestras analizadas está por debajo de los otros estudios en casi dos décimas, lo cual en términos prácticos es una señal de pérdida de diversidad por mal manejo de los cruces en el pasado.

**Tabla 6.** k = número de alelos por loci. N = número de individuos analizados. HObs = Heterocigicidad observada. HExp = Heterocigicidad esperada. HW = Hardy Weinberg (ND = No determinado. \*\*\* = en equilibrio de HW).

Locus	k	N	HObs	HExp	HW	F(Null)
CTm4	2	146	0.041	0.079	ND	0.285
CAm26	4	145	0.283	0.264	ND	-0.04
CTm3	4	146	0.473	0.549	***	0.113
CAm20	2	146	0.185	0.18	ND	-0.02
CAm2	8	146	0.774	0.794	***	0.001
CTm7	6	143	0.622	0.722	***	0.072
Cam16	5	146	0.562	0.528	***	-0.03
Ctm5	6	146	0.63	0.723	***	0.066
Heterocigicidad promedio.	0.4343					

- Por esta razón, es de extrema importancia que para darle un buen manejo a la producción de pirarucú para su comercialización, realizar cruces entre los individuos que se encuentren no emparentados y realizar seguimiento a lo largo de las diferentes cohortes de peces de la diversidad genética para que esta no disminuya drásticamente y no sea necesaria la captura de individuos del medio natural.
- Otra recomendación es tomar pocos individuos del medio natural y con estos iniciar un nuevo plan de entrecruzamientos conociendo siempre el pedigree de los individuos, para realizar cruces entre individuos que no se encuentren emparentados entre sí, o si es viable el movimiento de reproductores con otros productores de pirarucú en otras regiones o países (Brasil, Perú, Bolivia) en donde se haga un análisis de su diversidad genética y se pueda ampliar el pool genético de estos organismos en las diferentes granjas de acuicultura.

## CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

### REFERENCIAS.

- Baird, R. W., Gorgone, A. M., McSweeney, D. J., Ligon, A. D., Deakos, M. H., Webster, D. L., ... Mahaffy, S. D. (2009). Population structure of island-associated dolphins: Evidence from photo-identification of common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in the main Hawaiian Islands. *Marine Mammal Science*, 25(2), 251–274.
- Caballero, S., Islas-Villanueva, V., Tezanos-Pinto, G., Duchene, S., Delgado-Estrella, A., Sanchez-Okrucky, R., & Mignucci-Giannoni, A. A. (2012). Phylogeography, genetic diversity and population structure of common bottlenose dolphins in the Wider Caribbean inferred from analyses of mitochondrial DNA control region sequences and microsatellite loci: Conservation and management implications. *Animal Conservation*, 15(1), 95–112.
- Castello, L. 2004. A Method to count pirarucu *Arapaima gigas*: fishers, assessment, and management. *North American Journal of Fish Management*, 24: 379–389.
- Goulding, M. (1980). *The fishes and the forest: explorations in Amazonian natural history*. Univ of California Press. 250.
- Hamoy, I. G., Santos, E. J. M., & Santos, S. E. B. (2008). Rapid and inexpensive analysis of genetic variability in *Arapaima gigas* by PCR multiplex panel of eight microsatellites. *Genetics and Molecular Research*, 7(1), 29-32.
- Hrbek, T., Crossa, M., & Farias, I. P. (2007). Conservation strategies for *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) and the Amazonian várzea ecosystem. *Brazilian Journal of Biology*, 67(4), 909-917.

## CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

Jones, A. G., Small, C. M., Paczolt, K. A., & Ratterman, N. L. (2010). A practical guide to methods of parentage analysis. *Molecular Ecology Resources*, 10(1), 6–30.

Kalinowski, S. T., Taper, M. L., & Marshall, T. C. (2007). Revising how the computer program cervus accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, 16(5), 1099–1106.

Kalinowski, S. T., Wagner, A. P., & Taper, M. L. (2006). ML-RELATE: A computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes*, 6(2), 576–579.

Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., ... Drummond, A. (2012). Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647–1649.

Kelkar, Y. D., Strubczewski, N., Hile, S. E., Chiaromonte, F., Eckert, K. A., & Makova K. D. (2010). What is a microsatellite: A computational and experimental definition based upon repeat mutational behavior at A/T and GT/AC repeats. *Genome Biology and Evolution*, 2(1), 620–635.

Martinelli, N. M. C., & Petrere Jr, M. (1999). Morphometric relationships and indirect determination of the length frequency structure of the pirarucu, *Arapaima gigas* (Cuvier), in Brazilian Amazonia. *Fisheries Management and Ecology*, 6(3), 233-240.

RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA  
URL <http://www.rstudio.com/>.

Saint-Paul, V. (1986). Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: a review. *Aquaculture* 5: 205–240.

Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., & Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3), 535–538.



\*Acuicultura y Pesca con responsabilidad\*



## CONVENIO N° 208 – 2019 CELEBRADO ENTRE AUNAP Y ACUICA

**OBJETIVO GENERAL:** Establecer mediante el sexaje y la selección con criterios genéticos poblacionales un stock de reproductores de pirarucú (*Arapaima gigas*) en el Departamento de Caquetá

Vollmer, N. L., & Rosel, P. E. (2017). Fine-scale population structure of common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in offshore and coastal waters of the US Gulf of Mexico. *Marine Biology*.

Weber, J. L., & May, P. E. (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics*, 44, 388–96.