



OBJETIVO GENERAL. Aunar esfuerzos para fortalecer el estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento de ejemplares adultos en cautiverio, con fines de conservación del capitán de la sabana *Eremophilus mutisii*, Humboldt, 1805.

OBJETIVO ESPECIFICO 1. Colectar material genético para la caracterización de la estructura y diversidad genética de las poblaciones del Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisii*), con fines de conservación.

ACTIVIDAD 1.1. Colecta de tejidos en la cuenca alta del río Bogotá en Villa Pinzón, embalse del Neusa (río Neusa tributario del río Bogotá) y laguna de Cucunubá.

PRODUCTO 1.1.1 Protocolo de toma de muestras en campo y de material genético en laboratorio.

Ponderación Producto: 10%

Avance: 10%

DICIEMBRE 2023

RESPONSABLE

Camilo Alberto Prieto Mojica

Introducción

La secuenciación o genotipificación de especies a través de tecnologías de nueva generación para estudios de estructura genética poblacional, requiere de muestras de ADN de alta calidad y concentración. Las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) están diseñadas para secuenciar gran cantidad de segmentos de ADN de forma masiva. Año tras año, la tecnología va avanzando y con ello las NGS van siendo actualizadas y mejoradas para lecturas de segmentos de ADN más grandes. Por tanto, un ADN puro y no degradado, es clave para la secuenciación de genomas a través de NGS. La tecnología de secuenciación RAD o RAD-seq (por sus siglas en inglés Restriction-site Associated DNA Sequencing) propuesta en este proyecto de investigación es una herramienta de NGS fraccionada que permite la identificación de pequeñas pero múltiples variaciones genéticas a lo largo del genoma de organismos para los cuales su estructura genética es aún desconocida (Bergey et al., 2013). Dichas variaciones actúan como marcadores genéticos y son de especial importancia en estudios de filogenia, estructura y diversidad genética, evolución, población, y conservación de especies (Díaz-Arce, 2019). Por tanto, RAD-seq se presenta como una metodología basada en secuenciación masiva para la identificación y genotipado de miles de polimorfismos de nucleótido único (SNPs – single nucleotide polymorphism) en organismos no modelo (Scaglione et al., 2012; Xie et al., 2018) como es el caso del Capitán de la Sabana.

Por otro lado, para la extracción y obtención de ADN de calidad y con alta concentración, es de vital importancia la calidad de la muestra o tejido obtenido y el medio en el cual ha sido colectado. Para el caso de muestras de sangre es importante tener en cuenta la forma de colecta, capacidad anticoagulante del medio de muestreo, la forma de conservación y transporte de la muestra. Todos estos factores pueden disminuir la viabilidad celular o facilitar la formación de coágulos que puede conllevar a pérdida del material genético o dificultar la obtención de este. Lo anterior impide la obtención de ADN con alta concentración y pureza.

Por lo anterior, el objetivo de este documento es detallar un protocolo para la captura, traslado, toma de muestras de sangre y extracción y purificación de ADN del pez Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisii*).

1. Captura, traslado de animales y aclimatación

Los ejemplares adultos del pez son obtenidos en el ambiente (Figura 1A). Dependiendo del sitio, los peces son capturados mediante pesca con anzuelo o con el uso de trasmallo. Con el primer método, se utiliza como carnada lombriz de tierra. De esta manera hay una menor afectación de los ejemplares por maltrato y manejo, por lo que debe ser la opción seleccionada pues se incrementa la supervivencia en las etapas posteriores a los diferentes procedimientos.

El transporte de los ejemplares de Capitán se realiza en bolsas plásticas con 10 litros de agua, en una carga animal por bolsa de 1 a 1,5 kg de biomasa. En transportes de corta duración (2 a 4 h) no es necesaria la incorporación de oxígeno. Con el objetivo de disminuir el estrés en los animales e inducir o incrementar la producción de mucus en la piel se debe adicionar sal a una concentración del 0,3 – 0,5%. El mucus de la piel es uno de los componentes más importantes de la inmunidad del pez, de ahí la importancia que se realice esta práctica en el transporte de los peces Capitán de la Sabana cuando son llevados hasta las instalaciones de la Unidad Experimental el Remanso de la Universidad.

Posteriormente, antes de liberar los peces en los tanques es necesario hacer un proceso de aclimatación (Figura 1B). La aclimatación en temperatura se realiza con las bolsas sin abrir durante un periodo de una hora (Landines et al., 2017; Moncaleano et al., 2018). Con

este proceso se regula el agua de las bolsas con el agua de los tanques de forma gradual hasta que los animales se acostumbren a la temperatura.



Figura 1. A) Recolección de ejemplares en el sitio de captura. B) Aclimatación previa a la liberación de los peces.

Para la liberación, colocar los animales capturados en diferentes tanques o sistemas de agua. Es importante tener en cuenta que, si provienen de diferentes regiones, los animales deben separarse dependiendo del número de animales y de la región de procedencia (Figura 2).



Figura 2. Tanques y sistemas de agua para la separación de animales

2. Protocolo toma de muestras en campo

2.1. Materiales

Antes de ir al lugar de muestreo se debe alistar el “*kit de muestreo*” con los materiales que se describen a continuación:

- Balde o recipiente con volumen mayor a 5 litros
- Eugenol (Anestésico)
- Nasas para captura de animales
- Jeringas de 3ml
- Agujas calibre 21g x 1-1/2
- Tubos con EDTA (1 o máximo 2 mL)
- Toallas de papel
- Paño o toalla
- Marcador sharpie
- Lapicero
- Formato de registro
- Gradillas de tubos
- Gel refrigerante para cadena de frio
- Guardián
- Bolsas rojas
- Balanza
- Ictiómetro
- Cámara fotográfica
- Nevera de icopor para transporte de muestras

3. Procedimiento

- a. En un recipiente con 20 litros de agua, adicionar 40 gotas de Eugenol disueltas en solución de etanol 70%.
- b. Tomar un pez del tanque utilizando las nasas y colocarlo durante 2 minutos en el recipiente con eugenol disuelto.



Figura 3. Pez capitán de la sabana en recipiente con eugenol

- c. Pasados los 2 minutos, tomar el pez utilizando un paño o toalla, medir utilizando el ictiómetro y pesar utilizando la balanza. Registrar los datos en el

formato, siguiendo el consecutivo del número de animales según corresponda por región específica.



Figura 4. Pez Capitán de la sabana con peso de 190.5 g.

d. Tomar una jeringa, abrirla, colocar la aguja, sujetar el pez y tomar entre 0.5 a 1ml de sangre.



Figura 5. Toma de sangre de un pez Capitán de la Sabana

e. Destapar un tubo con EDTA y adicionar la sangre cuidadosamente por las paredes del tubo asegurando que haya contacto con el EDTA que contiene el tubo (colocar la sangre despacio). Nota: Este proceso es muy importante para evitar la posterior formación de coágulos. Sangre coagulada dificulta el proceso de extracción del material genético y genera pérdidas de este, por tanto, es importante asegurar que la sangre se distribuya a través del tubo y que tenga contacto con el EDTA.



Figura 6. Distribución de la sangre colectada del pez Capitán de la Sabana en tubo con EDTA

f. Descartar la aguja en el guardián y la jeringa en una bolsa roja. Girar el tubo con la sangre dispersando alrededor del tubo y colocarlo en la gradilla.

g. Marcación del tubo y registro de la muestra: para el registro del animal o muestra colectada llevar en consideración la letra o letras iniciales de la región de muestreo y el consecutivo de la región en números arábigos e identificar el sexo del animal cuando sea posible, de la siguiente manera:

- Según localidad o región de colecta: Para la identificación de la región o localidad de la colecta tener en cuenta la siguiente estructura de formato:

a. Cuenca alta del río Bogotá en Villa Pinzón: VP y el número consecutivo en arábigo. Ejemplos: VP1, VP2, VP3, VP4.

b. Región embalse del Neusa: EN y el número consecutivo en arábigo. Ejemplos: EN1, EN2, EN3, EN4.

c. Laguna de Cucunubá: LC y el número consecutivo en arábigo. Ejemplos: LC1, LC2, LC3, LC4.

- Sexo del animal: macho o hembra. Para macho marcar con “m” minúscula y para hembra con “h” minúscula.

Ejemplo 1: Pez Capitán de la sabana macho proveniente de la cuenca alta del río Bogotá Villa Pinzón: VP1m.

Ejemplo 2: Pez capitán de la Sabana hembra proveniente del embalse de neusa: EN1h

- Fecha de colecta: registrar la fecha teniendo en cuenta día, mes, año. Ejemplo: 10/10/23.

h. Una vez colectada las muestras, envolver el o los geles refrigerantes congelados en papel Kraft o toalla de tal manera que evite el contacto directo de las muestras con el gel refrigerante congelado. Colocar la gradilla con las muestras o las muestras dentro de la nevera de icopor con geles refrigerantes para asegurar el transporte de las muestras a temperatura refrigerada.



Figura 7. Muestras de sangre de Capitán de la Sabana colectadas

- i. Llevar las muestras hasta el laboratorio de Genética Animal y molecular y almacenar a temperatura entre 4 a 8 °C hasta su proceso de extracción de ADN.

3. EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE ADN

Teniendo en cuenta que los análisis de NGS y RAD-seq son de alta resolución y como explicado en la introducción el ADN extraído debe cumplir con parámetros específicos de pureza e integridad para obtener resultados confiables. Floragenex, el laboratorio contratado para realizar dichos análisis solicita que las muestras de ADN genómico tengan características específicas de calidad y cantidad que son fundamentales para la obtención de resultados confiables. Dichas características se listan a continuación:

- Las muestras de cada individuo a secuenciar deben contener un mínimo de 50uL de ADN de alto peso molecular (>10kb) a una concentración de 20 ng/uL.
- El ADN debe ser puro, de alta calidad y libre de ácido nucleico contaminante no objetivo (ARN, ADN plasmídico/bacteriano). El ADN debe estar normalizado para tener concentraciones iguales en cada muestra (20 ng/uL).
- Es necesario visualizar sus muestras en un gel de agarosa al 1,5% para comprobar la degradación. El ADN genómico debe mostrar una única banda (sin barrido debajo de la banda) con una longitud >10kb.
- Todas las muestras deberán altamente normalizadas y dispuestas adecuadamente en placas de 96 pocillos.

Para lograr obtener muestras de ADN con la pureza e integridad que exige la tecnología RAD-seq, se ha estructurado el siguiente protocolo que se describe a continuación:

3.1 Materiales

- Kit de extracción
- PBS 1x frío
- Tubos de 1.5ml
- Gradillas de tubos para 1.5ml
- Pipetas y puntas de 10, 100 y 1000 ul
- Alcohol
- Toallas de papel
- Guantes de nitrilo
- Centrifuga para tubos de 1.5ml
- Baño seco con calentamiento y agitación

3.2 Procedimiento:

1. Tomar y transferir 10 ul de sangre a un tubo de 1.5ml

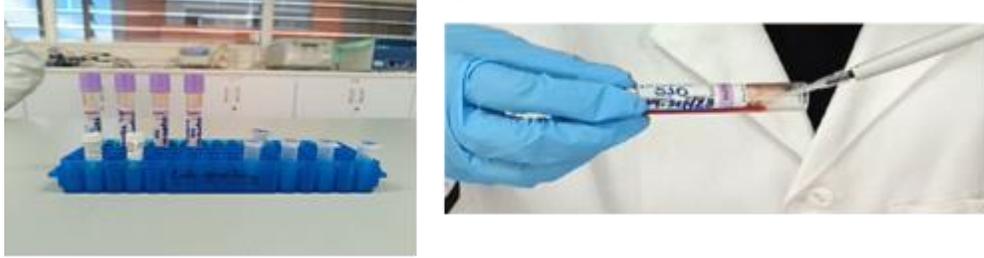


Figura 8. Tomando 10 ul de sangre del pez para iniciar proceso de extracción

2. Añadir 90 ul de PBS frio y mezclar utilizando vortex
3. Añadir 10 ul de PK y 3 ul de RNAsa A y mezclar por vortex
4. Adicionar 100 ul de Blood Lysis Buffer y llevar a vortex máximo (se forma una solución viscosa como se muestra en la siguiente figura).

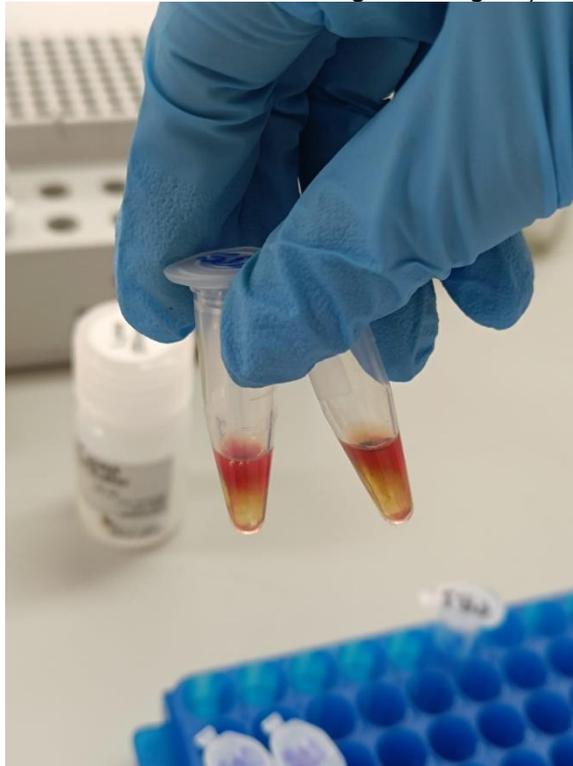


Figura 9. Formación de solución viscosa después de adicionar PK, RNAsa A y buffer de lisis a la muestra que contenía 10 ul de sangre más 90 ul de PBS.

5. Incubar por 5 min a 56 °C a máxima agitación (aprox. 1400rpm). No incube por más de 5 min (Figura 10).



Figura 10. Muestras en incubación a 1400 rpm por 5 minutos.

6. Adicionar 400 μ l de Binding buffer a la muestra y mezclar por 10 seg utilizando vortexar a máxima velocidad.



Figura 11. Vortexar la muestra a máxima velocidad

7. Transferir 600 μ l de la mezcla (lisado+binding buffer) a una columna de purificación contenida dentro de un tubo de colección.

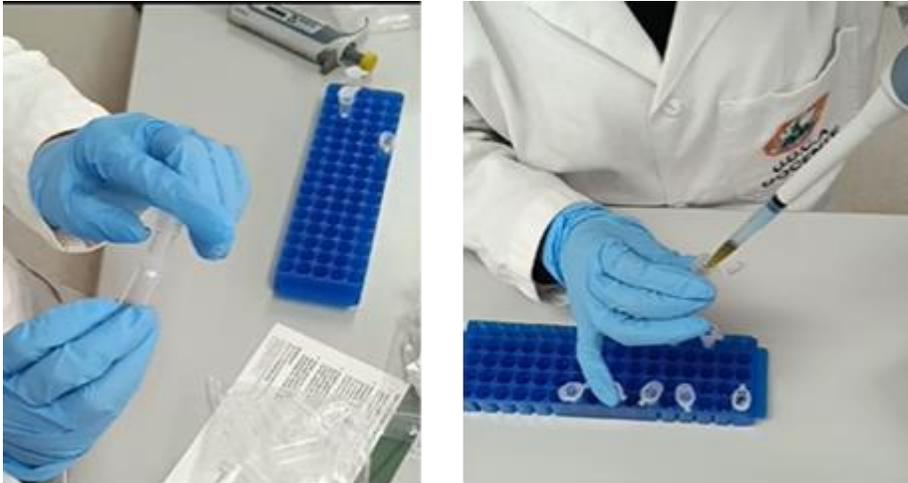


Figura 12. Alistamiento de columna y transferencia de muestra a columna de purificación

8. Tapar la columna y centrifugar x 3 min a 1.000 xg, posteriormente, sin retirar la columna de la centrifuga, centrifugue x 1min a máxima velocidad (mayor a 12.000 xg).



Figura 13. Centrifugación de las muestras a 12.900 xg

9. Descartar el flujo y el tubo de colección.



Figura 14. Descarte de flujo centrifugado

10. Transferir la columna a un nuevo tubo de colección y adicionar 500ul de Wash Buffer. Tapar e invertir 3 veces (**no vortexar**).



Figura 15. Adición de buffer de lavado a cada una de las muestras

11. Centrifugar inmediatamente x 1 min a máxima velocidad (mayor a 12.000 xg) y descartar el flujo (Figura 13).

12. Secar el tubo de colección, colocándolo hacia abajo en una toalla de papel de tal manera que permita remover residuos de buffer.



Figura 16. Remoción de residuos de buffer.

13. Colocar la columna dentro del tubo de colección. Adicionar 500 ul de wash buffer y cerrar. (Figura 17).

14. Centrifugar por un minuto a máxima velocidad (mayor a 12.000 xg) (Figura 13).

15. Descartar el flujo y el tubo de colección (Figura 14).

16. Colocar la columna en un tubo nuevo de 1.5 ml, estéril libre de DNase (no incluido en el kit).



Figura 17. Transfiriendo la columna a un tubo de 1.5 ml

17. Adicionar 100 μ l de elution buffer precalentado a 60°C. Tapar e incubar x 1 min a temperatura ambiente.

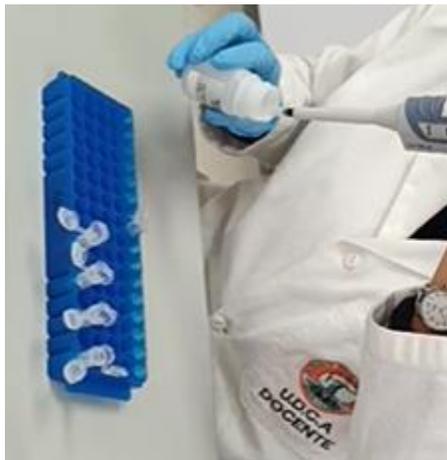


Figura 18. Adición de buffer de elución a cada una de las muestras extraídas.

18. Centrifugar x 1 min a máxima velocidad (mayor a 12.000 xg) (Figura 13).
19. Descartar la columna, tapar el tubo de 1.5 que contiene el ADN eluido.
20. Tomar 10 μ l de la muestra de ADN y colocarla en un tubo de PCR (esta alícuota de 10 μ l será utilizada para cuantificación y electroforesis).



Figura 19. Muestras en alícuotas para análisis de ADN extraído.
21. Almacenar las dos muestras (muestra extraída y alícuota) a -20°C para su conservación.

4. ANÁLISIS DEL ADN

Posterior a la extracción y purificación del ADN, este debe ser analizado para evaluar su pureza y concentración. Este análisis debe hacerse a través de espectrofotometría, fluorimetría y electroforesis de agarosa para determinar cuantitativa y cualitativamente las características de cantidad y calidad de este, como se muestra en la Figura 20.

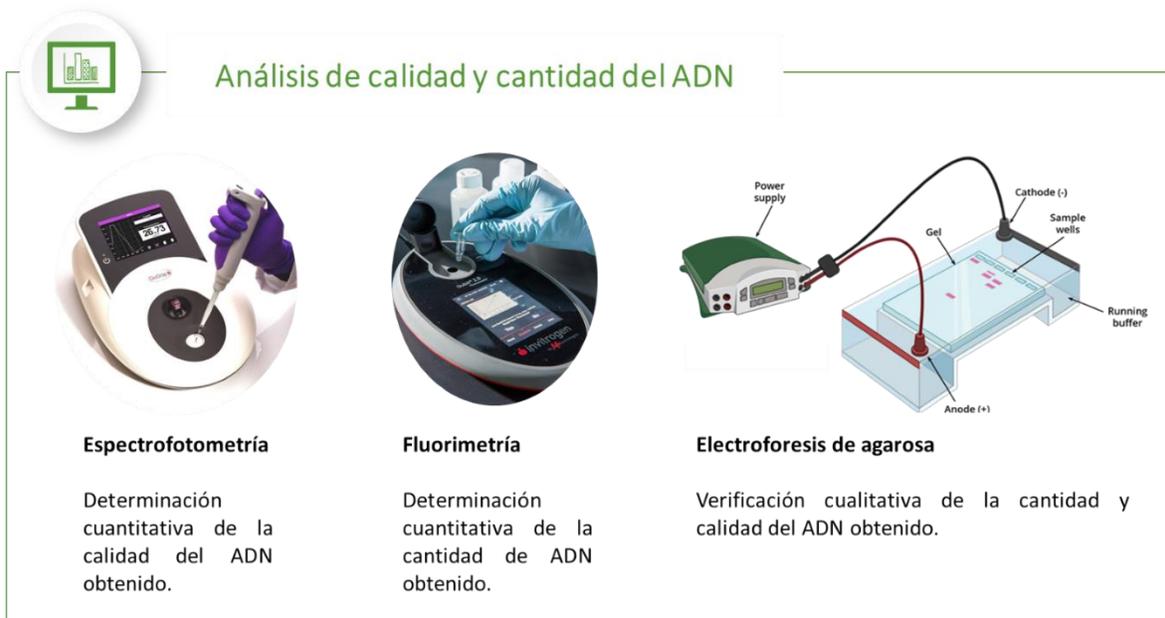


Figura 20. Técnicas de análisis usadas para determinar las características del ADN genómico obtenido.

- a. **Análisis espectrofotométrico:** Este análisis se realizará en el equipo Harvard Bioscience™ Espectrofotómetro UV/Vis BioDrop DUO PC (Fisher Scientific), usando 2 uL de muestra. Para esto, tomar alícuotas de 10 ul del material genético extraído y enviarlo en nevera de icopor en gradillas de frio hasta las

instalaciones del laboratorio BSL-3 donde se realizará la cuantificación de ADN y RNA. En este caso no es deseable la contaminación por RNA total, por tanto, debe cuantificarse también RNA. La concentración de RNA debe ser muy pequeña a una relación menor del 5% de la concentración de ADN.

Así mismo, este análisis permite conocer la calidad del ADN genómico, mediante la cuantificación de la absorbancia en tres longitudes de onda: 230 nm, 260 nm y 280 nm, como indicadores por excelencia de la pureza del ADN. En general, se considera que el ADN es puro cuando la relación A260/230 es 1.8-2.2. Una relación menor de 1.8 se relaciona con presencia de contaminantes como sales o carbohidratos. Por otro lado, la relación 260/280 entre valores 1.8-2.0 indica un ADN de pureza óptima. Valores por debajo indican la presencia de moléculas aromáticas o que los contienen, como las proteínas.

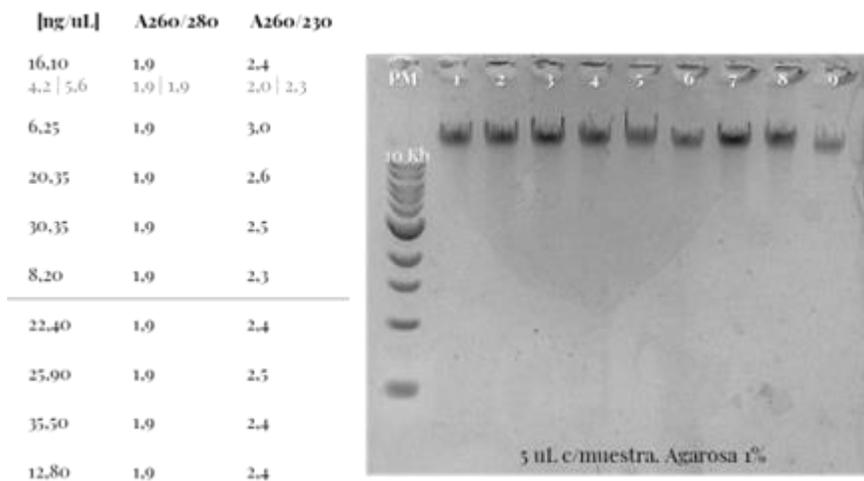


Figura 21. Ejemplo de resultados de cuantificación de ADN extraído y electroforesis de las mismas muestras.

Análisis por fluorimetría: Para este análisis usar los kits Qubit® dsDNA Assay (Invitrogen) de amplio espectro (BR) y alta resolución (HS) y las mediciones se realizan en el fluorómetro Qubit® 2.0 (Invitrogen). En ambos casos, utilizar 2 uL de cada muestra y acorde el procedimiento y las recomendaciones del fabricante del kit.

El análisis y verificación de contaminación por RNA también debe realizarse a través de fluorimetría, para esto utilice los kits Qubit™ RNA High Sensitivity (HS) y Broad Range (BR).



Figura 22. Cuantificación de ADN y RNA por fluorometría utilizando el equipo fluorómetro Qubit® 2.0 (Invitrogen).

El análisis electroforético: se realiza corriendo las muestras de ADN genómico en un gel de agarosa al 1,5 % en Buffer TAE 1X. Para este análisis utilice 2 uL de muestra, 1 uL de buffer de carga (BlueJuice™ Gel Loading Buffer (10X), Invitrogen), y 7 uL de agua ultrapura, para un volumen final de 10 uL. En cada corrida electroforética utilice 3 uL de marcador de alto peso molecular (1 kb DNA Ladder, NEB), más 1 uL de buffer de carga y 7 uL de agua ultrapura con las siguientes condiciones de corrida: 80 V, 60 min.

Resultados

En la Tabla 1 se muestra los resultados de concentración y las relaciones 260/230 y 260/280 obtenidas en muestras de ADN extraídas y purificadas a partir de Sangre de Capitán de la Sabana. Como podemos observar, utilizando 10uL de sangre y bajo el protocolo descrito anteriormente, se obtienen rendimientos adecuados y aceptables que permiten cumplir con el requisito solicitado por la empresa que realizará los procesos de secuenciación, donde especifica: las muestras de cada individuo a secuenciar deben contener un mínimo de 50uL de ADN de alto peso molecular (>10kb) a una concentración de 20 ng/uL.

Por otro lado, los resultados obtenidos de las relaciones 260/230 y 260/280 muestran la pureza del ADN obtenido con el protocolo utilizado. Como se puede observar, la mayoría de las muestras conservan relaciones 260/230 entre el rango aceptado de 1.8-2.2, indicando en este caso la ausencia de contaminantes como sales o carbohidratos. Así mismo, la relación 260/280 se encuentra entre el rango de valores 1.8-2.0 indicando un ADN de pureza óptima, debido a que valores por debajo de este rango pueden indicar la presencia de moléculas aromáticas o de proteínas. Para el caso de la presencia de ARN, podemos observar que la relación ARN/ADN es aceptable (alrededor del 10%).

Los anteriores parámetros permiten mostrar el cumplimiento del siguiente requisito donde se solicita que el ADN debe ser puro, de alta calidad y libre de ácido nucleico contaminante no objetivo (ARN, ADN plasmídico/bacteriano).

Tabla 1. Concentración de ADN, RNA y relaciones 260/230 y 260/280 de muestras de ADN extraídas.

Muestra	ADN (ng/uL)	RNA (ng/uL)	260/230	260/280
1	179	13.3	2.2	1.9
2	118	10.2	2	1.9
3	265	17.9	2.3	2.0
4	111	10	2.4	1.9
5	106	11.5	2.2	1.9
6	154	15.4	2.2	1.9

Adicionalmente, como solicitado en los requisitos de cumplimiento para envío de las muestras a secuenciación, en la Figura 23 se muestra un gel de agarosa al 1.5 % de las muestras de ADN extraídas y purificadas. Como se puede observar en el gel, todas las muestras de ADN genómico presentan una única banda sin barrido debajo de esta, lo que permite inferir que no hay degradación de la molécula, es decir, el ADN genómico extraído y purificado no se encuentra degradado o fragmentado.

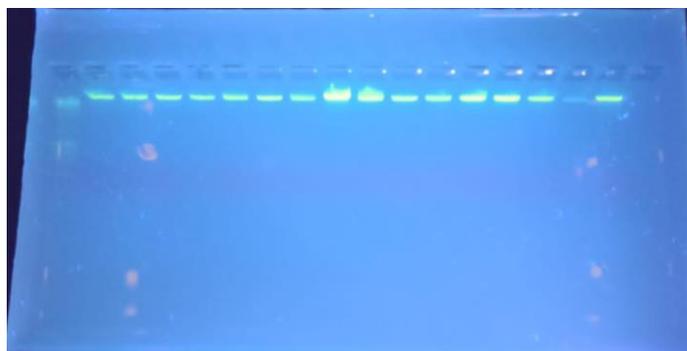


Figura 23. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de muestras de ADN extraídas y purificadas a partir de sangre del pez capitán de la Sabana

Finalmente, en el gel se puede evidenciar que la mayoría de las bandas muestran similar grosor, lo que indica que las muestras tienen concentraciones parecidas, sin embargo, también se puede observar algunas diferencias entre muestras. Algunas con bandas más delgadas o menos marcadas lo que denota diferencias en las concentraciones, por tanto, para el envío todas las muestras deben ser normalizadas a concentración de 20 ng/ul. Este proceso debe hacerse solamente pocos días antes del envío para evitar variaciones y alteraciones en la concentración.

Bibliografía

Baird, N. A. et al. Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. PLoS One 3, 1–7 (2008).

Bergey, C. M., Pozzi, L., Disotell, T. R. & Burrell, A. S. A New Method for Genome-wide Marker Development and Genotyping Holds Great Promise for Molecular Primatology. *Int. J. Primatol.* 34, 303–314 (2013).

Díaz-Arce, N. & Rodríguez-Ezpeleta, N. Selecting RAD-Seq data analysis parameters for population genetics: The more the better? *Front. Genet.* 10, 1–10 (2019).

Gómez, E. M., Sánchez, C. y C. P. Mojica. 2018. Estudio histológico y morfológico del desarrollo embrionario del pez capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*). *Rev. UDCA Actual. Divulg. Científica*, vol. 21, no. 2, pp. 479–489.

Landinez M. A. Prieto-Mojica C.A. Rodríguez, L. y R. Rosado. 2017. Perfil de esteroides sexuales del capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*) durante un ciclo hidrológico completo. *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica* 20 (1): 43-50.

Scaglione, D. et al. RAD tag sequencing as a source of SNP markers in *Cynara cardunculus* L. *BMC Genomics* 13, 3 (2012).

Xie, M. et al. Restriction site-associated DNA sequencing for SNP discovery and high-density genetic map construction in southern catfish (*Silurus meridionalis*). *R. Soc. Open Sci.* 5, (2018).



OBJETIVO GENERAL. Aunar esfuerzos para fortalecer el estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento de ejemplares adultos en cautiverio, con fines de conservación del capitán de la sabana *Eremophilus mutisii*, Humboldt, 1805.

OBJETIVO ESPECIFICO 1. Colectar material genético para la caracterización de la estructura y diversidad genética de las poblaciones del Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisii*), con fines de conservación.

ACTIVIDAD 1.2. Extracción de ADN de tejidos colectados

PRODUCTO 1.2.1. Informe técnico con la descripción de extracción de ADN y manejo de material genético para análisis genómico.

Ponderación Producto: 20%

Avance: 20%

DICIEMBRE 2023

RESPONSABLE

Camilo Alberto Prieto Mojica

INFORME TÉCNICO EXTRACCIÓN DE ADN Y MANEJO DE MATERIAL GENÉTICO PARA ANÁLISIS GENÓMICO

INTRODUCCIÓN

La estructura genética de una población representa una de las características de mayor relevancia para comprender la distribución y organización de la variabilidad genética dentro de las poblaciones de una especie. Su estudio ofrece alternativas para comprender y abordar los problemas asociados con la pérdida de diversidad biológica. Uno de los campos de aplicación de esta herramienta lo constituye la conservación de especies, a fin de minimizar el riesgo de extinción y preservar las especies como unidades dinámicas (Coker, 2017; Frankham et al., 2010). La comprensión de la diversidad genética aborda activamente los factores genéticos que contribuyen a los riesgos de extinción y establece los regímenes de gestión genética necesarios para minimizar estos riesgos (Freeland et al. 2011). Sin embargo, involucra la aplicación de análisis de genética molecular por lo que, para su estudio es necesario la extracción y obtención de la molécula de ADN de los individuos que conforman la población para la secuenciación y/o amplificación de regiones específicas del genoma.

La secuenciación o genotipificación de especies a través de tecnologías de nueva generación para estudios de estructura genética poblacional, requiere de muestras de ADN de alta calidad y concentración. Las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) están diseñadas para secuenciar gran cantidad de segmentos de ADN de forma masiva. Año tras año, la tecnología va avanzando y con ello las NGS van siendo actualizadas y mejoradas para lecturas de segmentos de ADN más grandes. Por tanto, un ADN puro y no degradado, es clave para la secuenciación de genomas a través de NGS. La tecnología de secuenciación RAD o RAD-seq (por sus siglas en inglés Restriction-site Associated DNA Sequencing) propuesta en este proyecto de investigación es una herramienta de NGS fraccionada que permite la identificación de pequeñas pero múltiples variaciones genéticas a lo largo del genoma de organismos para los cuales su estructura genética es aún desconocida (Bergey et al., 2013). Dichas variaciones actúan como marcadores genéticos y son de especial importancia en estudios de filogenia, estructura y diversidad genética, evolución, población, y conservación de especies (Díaz-Arce, 2019). Por tanto, RAD-seq se presenta como una metodología basada en secuenciación masiva para la identificación y genotipado de miles de polimorfismos de nucleótido único (SNPs – single nucleotide polymorphism) en organismos no modelo (Scaglione et al., 2012; Xie et al., 2018) como es el caso del Capitán de la Sabana.

Por otro lado, para la extracción y obtención de ADN de calidad y con alta concentración, es de vital importancia la calidad de la muestra o tejido obtenido y el medio en el cual ha sido colectado. Por lo anterior, el objetivo de este informe es describir las actividades realizadas en la colecta de material genético de tres poblaciones locales del Capitán de la Sabana

(*Eremophilus mutisii*), así como el manejo y verificación de calidad del mismo, como requerimientos del ADN para su uso en secuenciación, análisis genómico y conservación como Banco de ADN del Capitán de la Sabana. Todas estas actividades realizadas en el marco del proyecto 482/2023: “Aunar esfuerzos para el fortalecimiento al estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento de reproductores con fines de conservación del capitán de la sabana *Eremophilus mutisii* Humboldt, 1805.

MATERIALES Y MÉTODOS

Captura, traslado y aclimatación de los animales

Para la colecta del material genético fueron capturados 85 ejemplares de Capitán de la Sabana de los cuales 39 animales fueron del Embalse de Neusa (N1-N39), 30 de la Laguna de Cucunubá (LC1 – LC30) y 16 correspondieron a la Cuenca alta del río Bogotá en Villa Pinzón (VP1-VP16). Los ejemplares del pez fueron obtenidos del ambiente con la ayuda de pescadores expertos de la región o zona de colecta quienes usan como método de pesca anzuelo o trasmallo. Posteriormente a la captura, los peces fueron transportados en bolsas plásticas con agua hasta las instalaciones de la Unidad Experimental el Remanso de la U.D.C.A. Una vez estaban en el Remanso y antes de la liberación en los tanques dispuestos para la ubicación de los peces, las bolsas que contenían los animales fueron colocadas dentro de los tanques de agua para el proceso de aclimatación (Figura 1). Todo el proceso de captura, transporte y traslado fue realizado teniendo en cuenta el paso a paso y recomendaciones realizadas en el “*protocolo para toma de muestras en campo y de material genético en laboratorio del pez capitán de la sabana, Eremophilus mutisii*” elaborado en el marco de este proyecto.



Figura 1. Aclimatación y liberación de los ejemplares capturados para la toma de sangre y extracción de ADN.

Toma de muestras de sangre para extracción de ADN

La toma y extracción de sangre a partir de ejemplares de capitán de la Sabana fue realizado bajo el procedimiento y recomendaciones del *“protocolo para toma de muestras en campo y de material genético en laboratorio del pez capitán de la sabana, Eremophilus mutisii”*, para esto, antes de la extracción de sangre los peces fueron anestesiados con aceite de clavo (*Sygium aromaticum*), en una cantidad de 30-150 mg/L dependiendo del tamaño. Posteriormente, utilizando jeringas de 3 ml, de cada animal fue extraído entre 0.5 a 1ml de sangre y colocada en tubos con EDTA debidamente marcados. Adicionalmente, todos los peces fueron pesados, sexados e identificados con microchip. Finalmente, los siguientes datos fueron registrados y tabulados en base de datos: fecha de colecta, código, el cuál correspondió al código asignado acorde a la población (Ej: LC1, correspondió a la asignación del primer animal de la Laguna de Cucunuba del cual fue colectada sangre para extracción de ADN), número de chip, peso y sexo (Figura 2). Las muestras de sangre colectadas fueron llevadas en refrigeración al Laboratorio de Genética Animal y Molecular de la U.D.C.A para su posterior extracción de ADN.



Figura 2. Proceso de anestesia, pesaje, extracción de sangre y registro de información de cada pez capturado.

Extracción y purificación de ADN

La extracción de ADN fue realizada teniendo en cuenta el paso a paso y recomendaciones de el “*protocolo para toma de muestras en campo y de material genético en laboratorio del pez capitán de la sabana, Eremophilus mutisii*” elaborado en el marco de este proyecto. El ADN fue extraído de forma individual a partir de las 85 muestras de sangre colectadas de los ejemplares de Capitán de la Sabana provenientes del Embalse de Neusa (N1-N39), Laguna de Cucunubá (LC1 – LC30) y la Cuenca alta del rio Bogotá en Villa Pinzón (VP1-VP16) utilizando el kit Monarch® Genomic DNA Purification Kit. Para el proceso de lisis fue usado 10ul de sangre de cada pez, 90 ul de PBS, 10ul de proteinasa K, 5ul de enzima RNAsa y buffer de lisis. Posteriormente, el proceso de purificación se realizó utilizando buffer de lavado y centrifugación siguiendo el paso a paso recomendado por el fabricante del kit. Finalmente, el ADN purificado y obtenido en la columna fue eluido en 100 ul de buffer (Figura 3).



Kit de extracción utilizado



Lisis: Muestras de sangre con PBS, proteinasa K, RNAsa y buffer de lisis



Purificación: Adición de buffer de lavado para purificación



Elución y centrifugación para obtención del ADN



Muestras de ADN extraídas

Figura 3. Proceso de lisis, purificación, elución y obtención de ADN.

Evaluación de las características del ADN extraído

La verificación de las características y cumplimiento de los requisitos de concentración, pureza e integridad del ADN extraído fue realizada utilizando las técnicas de espectrofotometría, Fluorimetría y Electroforesis de agarosa como se resume en la Figura 4.



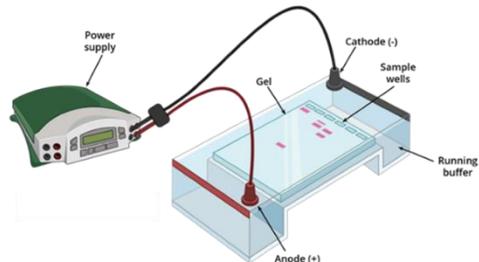
Espectrofotometría

Determinación cuantitativa de la calidad del ADN obtenido.



Fluorimetría

Determinación cuantitativa de la cantidad de ADN obtenido.



Electroforesis de agarosa

Verificación cualitativa de la cantidad y calidad del ADN obtenido.

Figura 4. Técnicas de análisis usadas para verificar las características del ADN genómico extraído.

Espectrofotometría

La evaluación y verificación de pureza cuantitativa del ADN extraído fue realizada por espectrofotometría usando del equipo BioDrop Duo, marca Biochrom, en microvolúmenes de 2.0 μL de la muestra. Este servicio fue prestado por el Centro de investigación y Diagnóstico BSL-3 de la U.D.C.A. Para esto, una vez finalizado el proceso de extracción y purificación del ADN, se realizaron alícuotas de 10 μL de la muestra extraída (Figura 5) y enviadas al laboratorio BSL-3, quienes enviaron el reporte de concentración de la molécula en $\text{ng}/\mu\text{L}$, junto con las respectivas relaciones de pureza A260/A280 y A260/A230 (Figura 6). Los datos de cada muestra fueron recopilados en archivo excel.

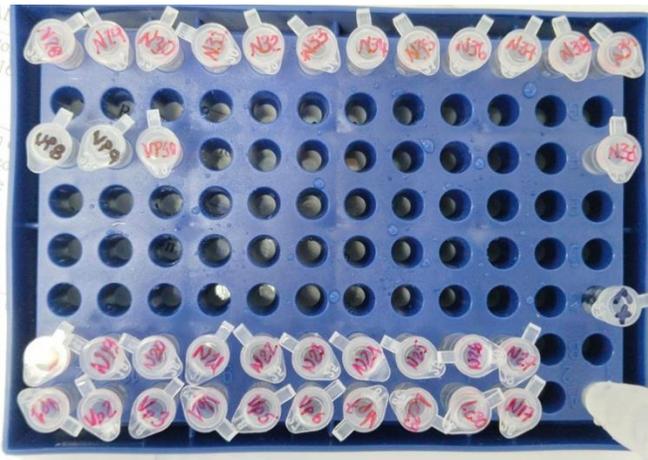


Figura 5. Ejemplo de algunas alícuotas de muestras de ADN enviadas para verificación cuantitativa de concentración y pureza.



Figura 6. Resultado de concentración y relaciones de pureza (260/230 y 260/280) de una muestra de ADN obtenida a partir de sangre de Capitán de la Sabana, evaluada por espectrofotometría.

Fluorimetría

La evaluación y verificación de concentración y cantidad de ADN de cada una de las muestras extraídas fue realizada por fluorimetría usando el equipo Qubit 2.0 Fluorometer y el kit Qubit dsDNA BR Assay Kit. Para el proceso fue utilizado 1 μL de la muestra de ADN extraída y 199 μL de la solución de trabajo preparada como recomendado por el fabricante del kit

dsDNA BR Assay. Antes del proceso de lectura, fueron utilizados los respectivos estándares de calibración para el kit. En este caso fue usado 10 ul de cada estándar recomendado por el fabricante y 190 ul de la solución de trabajo, para un volumen final de la reacción de 200 ul. Los resultados de cada muestra fueron registrados y consolidados en el mismo archivo Excel donde se registraron los datos por Espectrofotometría.



Figura 7. Cuantificación de ADN por Fluorometría utilizando el equipo fluorómetro Qubit® 2.0 (Invitrogen) y el kit Qubit dsDNA BR Assay Kit.

Evaluación de la integridad y pureza cualitativa del ADN extraído a través de Electroforesis

Para la electroforesis fue utilizada agarosa al 1.5% en Buffer TAE 1X. Todas las corridas fueron realizadas con un volumen final de 10 ul (concentración final de ADN entre 20 y 40 ng/ul), los cuales fueron distribuidos de la siguiente manera: un (1) ul de buffer de carga (BlueJuice™ Gel Loading Buffer (10X), Invitrogen), uno (1) o dos (2) microlitros de muestra dependiendo de su concentración (concentración final en los 10 ul entre 20 y 40 ng/ul) y siete (7) u ocho (8) ul de agua dependiendo del volumen de muestra utilizado. En cada corrida electroforética se utilizó 3 uL de marcador de alto peso molecular (1 kb DNA Ladder, NEB), más 1 uL de buffer de carga y 7 uL de agua ultrapura con las siguientes condiciones de corrida: 80 V, 60 min. Como buffer o tampón de corrida fue usado TAE 1X. Los equipos, preparación y gel de electroforesis se muestran en la Figura 8.



Equipos y preparación de electroforesis



Gel de agarosa donde se corrieron 32 muestras de ADN

Figura 8. Evaluación de la integridad y pureza cualitativa del ADN extraído a través de Electroforesis.

Normalización y envío de muestras a secuenciación

El proceso de normalización fue realizado teniendo en cuenta la concentración final de cada muestra obtenida a través de fluorimetría. A partir de la concentración y usando la fórmula $C1.V1 = C2.V2$, fue calculado el volumen de ADN extraído y agua necesaria para obtener 50 ul de muestra a concentración de 20ng/ul. Posterior a la obtención de la solución, todas las muestras normalizadas fueron cuantificadas para verificación de la concentración usando el equipo Qubit 3.0 Fluorometer y el kit Qubit dsDNA HR Assay Kit como se muestra en la Figura 7. Los datos obtenidos de cada muestra fueron registrados y consolidados en el archivo excel que contenía la información registrada en cada paso.

Una vez normalizada y verificada la concentración de todas las muestras, se procedió a la distribución en placa (Figura 9) y embalaje de las mismas para el envío.

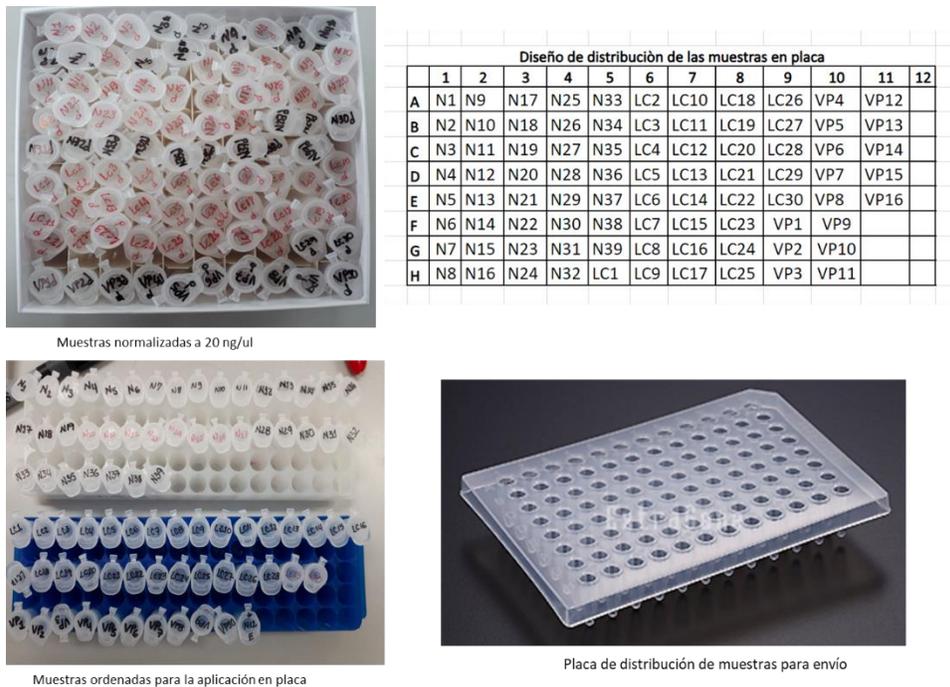
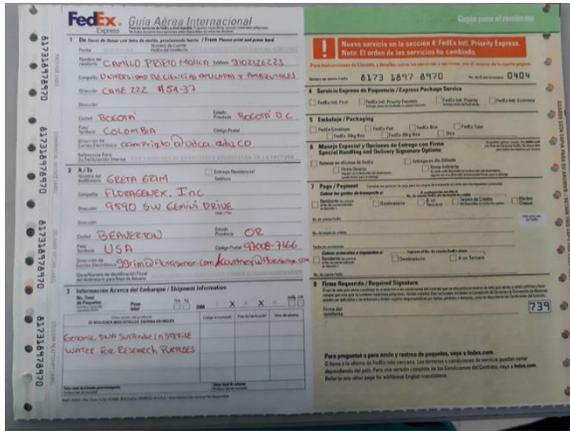
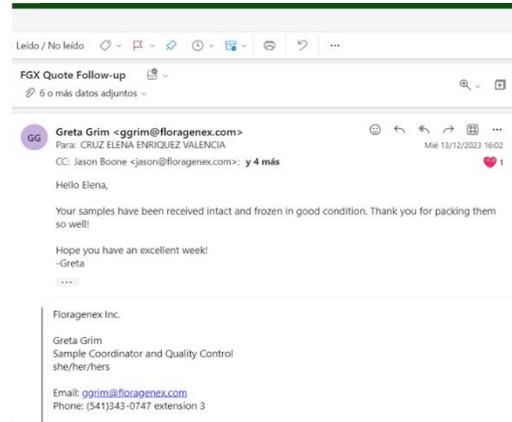


Figura 9. Muestras normalizadas a 20 ng/ul, diseño y distribución de las muestras en placa enviadas para secuenciación.

Las muestras fueron enviadas a Florigenex satisfactoriamente el 11 de diciembre de 2023. En la Figura 10 se muestra el certificado de envío y el e-mail de confirmación de recibido a satisfacción por parte de la empresa.



Comprobante de envío de muestras (11 de diciembre de 2023)

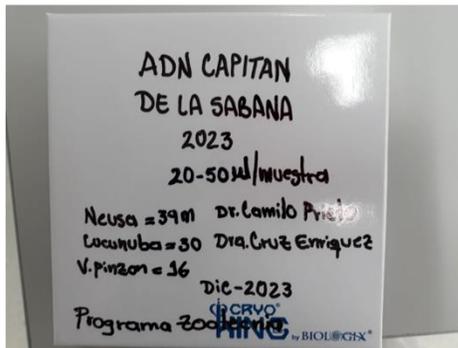


E-mail de recibido a satisfacción por parte de Florigenex (13 de diciembre de 2023)

Figura 10. Comprobante de envío y recibido a satisfacción de las muestras.

Fortalecimiento del banco de ADN del pez Capitán de la Sabana de la U.D.C.A

El remanente de las muestras de ADN obtenidas durante la ejecución de este proyecto fue organizado y almacenado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para el fortalecimiento del Banco de ADN del pez Capitán de la Sabana de la U.D.C.A. (Figura 11).



Caja con muestras de ADN obtenidas en la ejecución CONVENIO 482 AUNAP / U.D.C.A. 2023



Almacenamiento y conservación de muestras de ADN remanente como Banco de ADN del pez Capitán de la Sabana en la U.D.C.A

Figura 11. ADN de pez Capitán de la Sabana obtenido en convenio 482 AUNAP/U.D.C.A 2023 y conservación de muestras como banco de ADN de Capitán de la Sabana en la U.D.C.A.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Número de individuos, concentración y pureza del material genético obtenido

En las siguientes Tablas se detalla la concentración y pureza de las muestras de ADN extraídas a partir de sangre de peces Capitán de la Sabana provenientes del Embalse de Neusa (Tabla 1), Laguna de Cucunubá (Tabla 2) y Cuenca alta del río Bogotá en Villa Pinzón (Tabla 3). En el tiempo de ejecución del proyecto se logró obtener material genético de 39 individuos de Neusa, 30 de la Laguna de Cucunubá y 16 de Villa Pinzón. Para el caso de Villa

Pinzón, la captura y obtención de los animales se vio afectada por la temporada de fin de año.

Acorde con los resultados de concentración y las relaciones 260/230 y 260/280 obtenidas en todas las muestras de ADN extraídas y purificadas a partir de Sangre de Capitán de la Sabana de las 3 poblaciones, se obtuvieron rendimientos adecuados y aceptables los cuales permitieron dar cumplimiento con el requisito solicitado para secuenciación por RAD-seq (mínimo 50 ul a concentración de 20 ng/uL), además debido a los altos rendimientos de concentración, fue posible mantener un remanente de material genético de cada individuo el cuál hará parte del Banco de ADN del pez Capitán de la Sabana que ha venido almacenando y conservando la U.D.C.A.

Por otro lado, los resultados obtenidos de las relaciones 260/230 y 260/280 muestran la pureza del ADN obtenido con el protocolo utilizado. Como se puede observar la mayoría de las muestras conservan relaciones A260/A230 entre el rango aceptado de 1.8-2.2, indicando en este caso la ausencia de contaminantes como sales o carbohidratos, que podrían inhibir la actividad o reacciones enzimáticas usadas en el proceso de secuenciación. Así mismo, la relación A260/A280 se encuentra entre el rango de valores 1.8-2.0 indicando un ADN de pureza óptima, debido a que valores por debajo de este rango pueden indicar la presencia de moléculas aromáticas o de proteínas. Los anteriores parámetros permiten mostrar el cumplimiento del siguiente requisito donde se solicita que el ADN debe ser puro, de alta calidad y libre de ácido nucleico contaminante no objetivo (ARN, ADN plasmídico/bacteriano).

Tabla1. Código, chip, sexo, peso, concentración (ng/ul) y pureza del material genético obtenido de peces del Embalse de Neusa

Información del pez				Valores de Espectrofotometría			Valores de Fluorometría	
Código	Chip	Sexo	Peso (gr)	ng/ul	A260/A280	A260/A230	Kit BR ng/ul	Kit HS ng/ul
N1	35628044	H	220	142.2	1.87	2.41	169	25.4
N2	35779382	M	240	125.7	1.88	2.42	138	24.6
N3	35780639	M	234.5	109.4	1.87	2.49	150	23.6
N4	35770873	M	247	153.4	1.86	2.42	103	25,8
N5	35614011	M	229.5	123.1	1.86	2.44	179	20.6
N6	35633601	H	275	121.1	1.87	2.48	179	18.6
N7	35639000	H	335.5	162.9	1.86	2.44	126	23.2
N8	35813062	M	202	164.2	1.86	2.48	200	19.2
N9	35809009	H	219.5	168.1	1.85	2.51	290	18.4
N10	35782794	H	262	120	1.84	2.51	196	19

N11	35772268	H	254	164.9	1.85	2.45	120	23.2
N12	35806533	M	301.5	190.9	1.885	2.22	134	20.6
N13	35624569	H	253.5	166.3	1.901	2.22	134	23
N14	35623045	H	315	139.6	1.897	2.25	102	22.6
N15	35638595	M	232	97.69	1.89	2.00	92.2	18
N16	35613036	H	185.5	113.1	1.892	2.01	114	19
N17	35629127	M	184.5	192,1	1,92	2,399	176	18
N18	35769558	H	154.5	151,3	1,92	2,347	96.4	20.6
N19	35638609	H	484	159	1,92	2,31	143	21
N20	35639323	H	420	82,66	1,96	2,451	83.2	19.5
N21	35776064	M	159	215,7	1,91	2,322	138	23.8
N22	35618336	H	167.5	148,6	1,91	2,418	143	20
N23	35627035	H	152	243,6	1,90	2,349	157	21.2
N24	35612282	M	168	113,8	1,90	2,284	133	22.8
N25	35786849	H	164	257,9	1,89	2,355	189	21.2
N26	35618610	M	243	154,9	1,89	2,424	150	24.6
N27	35794795	H	197	220,2	1,88	2,351	99.2	18.6
N28	35807847	H	588	115,1	1,86	2,373	123	20.4
N29	35611768	M	227	151,30	1,924	2,35	118	18.9
N30	608096003	M	263.5	159	1,918	2,31	121	20.4
N31	608096596	M	236	82,66	1,955	2,45	59	22.4
N32	608096835	M	226	215,70	1,911	2,32	159	19.7
N33	608096834	M	257.5	148,60	1,908	2,42	160	18.5
N34	608096829	H	230.5	243,60	1,897	2,35	135	21.4
N35	608097286	M	199	113,80	1,897	2,28	113	18.8
N36	608096623	H	187	257,90	1,888	2,36	153	20.4
N37	608096589	H	255	154,90	1,89	2,42	151	20.8
N38	608096841	H	162.5	220,20	1,875	2,35	182	18.1
N39	608095610	H	308.5	115,10	1,856	2,37	83.8	17.1

Código: corresponde a la numeración asignada a cada animal de la población, H: pez con sexo hembra; M: pez con sexo macho

Tabla 2. Código, chip, sexo, peso, concentración (ng/ul) y pureza del material genético obtenido de peces de la Laguna de Cucunubá

Información del pez				Valores de Espectrofotometría			Valores de Fluorometría	
Código	Chip	Sexo	Peso (gr)	ng/ul	A260/A280	A260/A230	Kit BR ng/ul	Kit HS ng/ul
LC1	35776280	NR	42	240.6	1.88	2.16	284	21.6
LC2	35780068	H	57	177.8	1.87	2.15	212	20

LC3	35797850	M	53.5	206	1.88	2.12	252	25.2
LC4	35811289	NR	77.5	91.83	1.86	1.76	121	22.2
LC5	35802805	NR	58.5	157.7	1.87	2.36	212	19.6
LC6	35778028	NR	116.5	173	1.87	2.41	184	23.8
LC7	35627335	M	45	183.6	1.87	2.42	218	18.9
LC8	35774272	M	41.5	116.7	1.86	2.28	164	19
LC9	35798831	H	93.5	144.6	1.85	2.27	187	21.8
LC10	35843555	NR	56.5	158.6	1.86	2.36	195	17.7
LC11	35770886	H	53	168.4	1.86	2.40	202	20.2
LC12	35769074	M	51	185.9	1.86	2.43	214	24
LC13	35776576	H	47	176.8	1.86	2.37	250	18.5
LC14	35784036	M	37	73.2	1.84	2.15	95	19.2
LC15	35770803	H	95	199.1	1.86	2.37	230	19.5
LC16	35770770	H	51.5	99.01	1.85	2.34	158	16.9
LC17	35783102	H	51	131.9	1.84	2.31	129	25
LC18	35636815	M	61	148.6	1.84	2.24	197	17.4
LC19	35784026	H	68	93.49	1.82	2.05	104	16.8
LC20	35627309	M	42	203.5	1.85	2.40	226	20.2
LC21	35807046	H	58.5	206.1	1.85	2.34	258	18.9
LC22	35778610	H	93	194.3	1.84	2.43	232	22.8
LC23	35775851	H	53	192.2	1.84	2.42	226	19.7
LC24	35770585	M	63	263.2	1.85	2.43	302	19.6
LC25	35798004	H	51	166.2	1.83	2.19	193	23.2
LC26	35632615	H	78	183.9	1.84	2.42	155	22.6
LC27	35612875	M	54.5	136.4	1.81	2.11	149	24.2
LC28	35616769	H	119.5	178.8	1.83	2.39	175	19.8
LC29	35809608	H	44	104,50	1,85	2,67	118	18.4
LC30	35771631	H	72.5	144,60	1,86	2,56	171	17.2

Código: corresponde a la numeración asignada a cada animal de la población, H: pez con sexo hembra; M: pez con sexo macho; NR: sexo del pez no identificado.

Tabla 3. Código, chip, sexo, peso, concentración (ng/ul) y pureza del material genético obtenido de peces de la Cuenca alta del río Bogotá en Villa Pinzón.

Información del pez				Valores de Espectrofotometría			Valores de Fluorometría	
Código	Chip	Sexo	Peso (gr)	ng/ul	A260/A280	A260/A230	Kit BR ng/ul	Kit HS ng/ul
VP1	608097524	H	159.5	127.7	1.84	2.38	75.6	19.1
VP2	608097007	H	183.5	182.6	1.86	2.18	90.6	20.4
VP3	608096771	M	123	148.7	1.84	2.27	161	16.1
VP4	608097549	H	32	77,12	1,94	2,66	121	20.4
VP5	608097363	NR	364	93,46	1,91	2,47	190	20.1
VP6	608097014	H	146	157,10	1,91	2,54	124	18.5
VP7	608097122	M	180.5	122,40	1,90	2,60	109	18.3

VP8	608095839	H	233.5	146	1,88	2,59	117	22.5
VP9	608097614	M	76.5	123,50	1,88	2,53	132	21
VP10	608096793	H	206.5	134,50	1,87	2,56	94.4	16.8
VP11	608095354	H	117	159	1.918	2,31	118	24
VP12	608096605	H	129	82,66	1.955	2,45	265	24.6
VP13	608097380	H	180	215,70	1.911	2,32	87	23.4
VP14	608097329	H	267	148,60	1.908	2,42	111	21.4
VP15	608097003	H	132.5	243,60	1.897	2,35	106	20.9
VP16	608097361	H	161	113,80	1.897	2,28	154	20.3

Código: corresponde a la numeración asignada a cada animal de la población, H: pez con sexo hembra; M: pez con sexo macho; NR: sexo del pez no identificado.

Integridad y pureza del material genético extraído, evaluado a través de Electroforesis

En la Figura 12 se presentan las fotos de los diferentes geles de las corridas de electroforesis realizadas a todas las muestras de ADN extraídas, normalizadas y enviadas a secuenciación a Floragenex. Como se puede observar en las diferentes fotos, el ADN extraído no se encuentra degradado debido a que se presenta una sola banda por encima del marcador de peso molecular de 1kb. Lo anterior significa que, con estos resultados el material genético obtenido es de alto peso molecular (>10kb) como requerido para secuenciación por RAD-seq y posterior análisis de la Estructura genética de las 3 poblaciones de donde pertenecieron los peces utilizados para este trabajo.

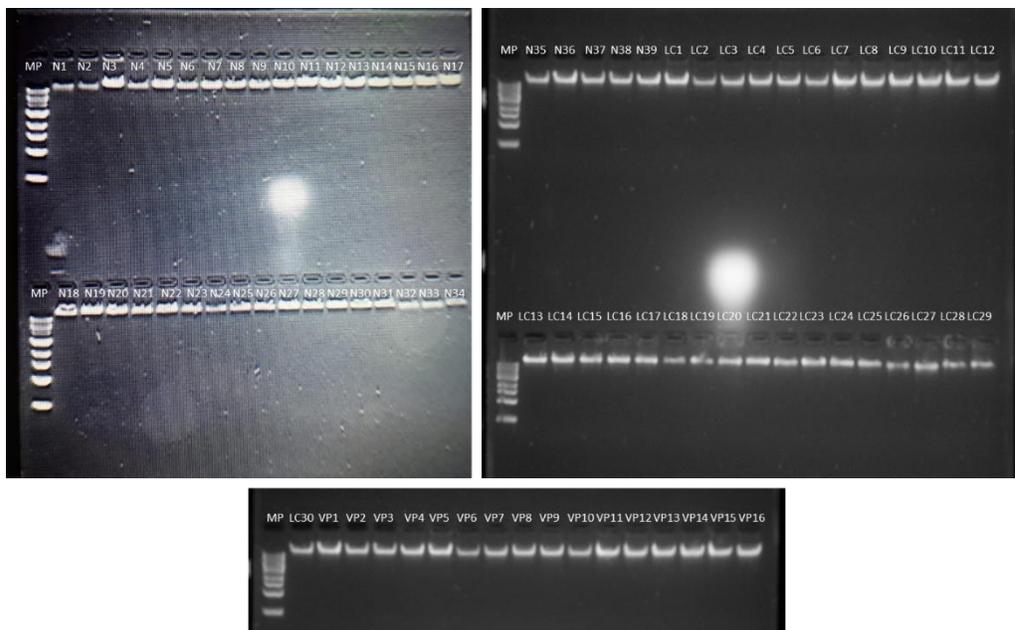


Figura 12. Resultados de las corridas de electroforesis de las muestras de ADN extraídas y purificadas. ADN peces Embalse de Neusa: N1 – N39; ADN peces Laguna de Cucunubà: LC1 – LC30 y ADN peces Villa Pinzòn: VP1 – VP16. MP: marcador de peso molecular.

CONCLUSIÓN

El material genético obtenido de los 85 ejemplares de Capitán de la Sabana provenientes de las 3 localidades seleccionadas fue de alta calidad con concentraciones iniciales mayores a 50ng/ul, es decir fueron obtenidas muestras de ADN con valores mayores a 5.000 ng y relaciones de pureza A260/A280 y A260/A230 entre 1.8-2.0 y 2.0-2.4, respectivamente. Además, la evaluación cualitativa a través de Electroforesis demostró la pureza e integridad de la molécula. Lo anterior permite concluir que el material genético obtenido cumple con los criterios de pureza e integridad del ADN necesarios para procesos de secuenciación por tecnologías de nueva generación como RAD-seq.

Adicionalmente, teniendo en cuenta la alta concentración y por ende alta cantidad de la molécula obtenida, además de sus características y propiedades específicas de integridad y pureza, este material genético permitió el fortalecimiento del Banco de ADN de Capitán de la Sabana de la U.D.C.A como un importante material disponible para futuras investigaciones.

BIBLIOGRAFIA

- Baird, N. A. et al. Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS One* 3, 1–7 (2008).
- Bergey, C. M., Pozzi, L., Disotell, T. R. & Burrell, A. S. A New Method for Genome-wide Marker Development and Genotyping Holds Great Promise for Molecular Primatology. *Int. J. Primatol.* 34, 303–314 (2013).
- Coker, O. M. (2017). Importance of genetics in conservation of biodiversity. *Nigerian Journal of Wildlife Management*, 1(1), 11-18.
- Díaz-Arce, N. & Rodríguez-Ezpeleta, N. Selecting RAD-Seq data analysis parameters for population genetics: The more the better? *Front. Genet.* 10, 1–10 (2019).
- Frankham, R. (2010). Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. *Biological conservation*, 143(9), 1919-1927.
- Freeland, J. R., Kirk, H., & Petersen, S. D. (2011). *nd Molecular Ecology* (2 Ed). John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex, UK. Pp 135.
- Gómez, E. M., Sánchez, C. y C. P. Mojica. 2018. Estudio histológico y morfológico del desarrollo embrionario del pez capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*). *Rev. UDCA Actual. Divulg. Científica*, vol. 21, no. 2, pp. 479–489.
- Landinez M. A. Prieto-Mojica C.A. Rodríguez, L. y R. Rosado. 2017. Perfil de esteroides sexuales del capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*) durante un ciclo hidrológico completo. *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica* 20 (1): 43-50.

Scaglione, D. et al. RAD tag sequencing as a source of SNP markers in *Cynara cardunculus* L. *BMC Genomics* 13, 3 (2012).

Xie, M. et al. Restriction site-associated DNA sequencing for SNP discovery and high-density genetic map construction in southern catfish (*Silurus meridionalis*). *R. Soc. Open Sci.* 5, (2018).



OBJETIVO GENERAL. Aunar esfuerzos para fortalecer el estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento de ejemplares adultos en cautiverio, con fines de conservación del capitán de la sabana *Eremophilus mutisii*, Humboldt, 1805.

OBJETIVO ESPECIFICO 2. Evaluar la morfología de poblaciones obtenidos en campo, estado nutricional y sanitario en cautiverio del Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisii*)

ACTIVIDAD 2.1 Colecta de datos morfológicos de los peces obtenidos en la cuenca alta del río Bogotá en Villa Pinzón, embalse del Neusa (río Neusa tributario del río Bogotá) y laguna de Cucunubá

PRODUCTO 2.1.1. Una base de datos en formato digital con la información morfométrica de los animales con un análisis estadístico descriptivo detallado.

Ponderación Producto: 20 %

Avance: 20 %

DICIEMBRE 2023

RESPONSABLE

Camilo Alberto Prieto Mojica

INTRODUCCIÓN

La historia evolutiva de las especies depende de la sistemática como disciplina biológica de clasificación (i.e. filogenia) (Klingenberg, 2011). Para tratar de encontrar un ordenamiento y descripción de la diversidad biológica, se fundamentan procesos categóricos a partir de la variabilidad de los rasgos discriminantes entre especies (Kendall, 1977). Los rasgos morfométricos fundamentan un paso clave para la comprensión de la complejidad estructural de organismos, la cual complementa junto a factores extrínsecos todas las formas de vida (Adams *et al.*, 2004).

La variabilidad interespecífica morfológica puede identificarse a través de aproximaciones matemáticas, mediante métodos de estadística multivariada y de observación directa (Casale *et al.*, 2017). Relacionando así el enfoque convencional biológico cualitativo a uno cuantitativo por medio de la “morfometría geométrica” como disciplina del estudio descriptivo de la variación de las formas biológicas (Slice, 2007). La inferencia morfométrica es consolidada por coordenadas cartesianas expresadas en puntos de referencias (“landmarks”, en inglés) informativos a nivel geométrico y expuestos con estudios de biomatemática y geometría de múltiples características de órganos y organismos (Bookstein, 1997).

La morfometría subyace en encontrar la varianza y covarianza de variables de medidas estructurales, que, complementaran la información estadística de “Análisis de Componentes Principales” (PCA), “Análisis de Variables Canónicas” (AVC) y regresiones lineales (López, 2015), apoyando así, a la intuición biológica. Sin embargo, la variabilidad morfológica a un rango interespecífico aumenta con el desarrollo de los organismos, de modo que, dificulta la descripción estructural de formas entre las especies (Lestrel, 2000). Diferentes grupos de peces se ubican en conjuntos crípticos durante su etapa larval, debido a un cambio continuo en la formación de aletas, espinas y radios, generando así un vacío taxonómico en la identificación en etapas de desarrollo (i.e. larva, juvenil y adulto) (Mayr & Ashlock, 1991).

Desde la estrategia definida por la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A.), para el cumplimiento de obligaciones propuestas en el desarrollo del proyecto “Fortalecimiento al estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento dereproductores con fines de conservación del capitán de la sabana *Eremophilus mutisii* Humboldt, 1805”, se promueve la implementación de acciones de conservación a partir de modos y mecanismos novedosos e innovadores que permiten contribuir a la generación de mejores condiciones sociales, económicas y ambientales para el país. Estas están concebidas para generar prosperidad compartida con las comunidades que habitan en las áreas de influencia directa e indirecta donde habita la especie, generando beneficios para la biodiversidad local y regional, así como bienestar a las mismas comunidades.

De modo que, el presente documento permite determinar la morfometría geométrica, lineal y merística de individuos de capitán de la sabana (*Eremophilus mutisi*), de la cuenca alta del río Bogotá, en el municipio de Villa Pinzón, Embalse de Neusa y Laguna de Cucunubá, del departamento de Cundinamarca, Colombia.

METODOLOGÍA

ÁREA DE ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en la unidad experimental de acuicultura de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A) (figura 1), localizada 13,5 km de Bogotá, con coordenadas geográficas de 4° 35' Latitud Norte y 74° 04' Longitud Oeste, con características climatológicas: temperatura media anual de 19°C, precipitación anual media de 1.000 mm, humedad relativa promedio de 83% y altura sobre el nivel del mar de 2.560 m s.n.m (Boada-Cuevas, 2011).



Figura 1. Localización de la unidad experimental acuícola, UDCA. Mapa realizado por: Leandro Rodríguez. Programa: QGIS 3.34.0.

DISPOSICIÓN DE EJEMPLARES

Se manipularon ochenta y cinco (85) ejemplares de *Eremophilus mutisii* (figura 2) de talla mayor a 15 centímetros de longitud total (figura 3), donde 39 individuos pertenecían al Embalse de Neusa (18 machos y 21 hembras), 30 individuos a la laguna de Cucunubá (9 machos, 16 hembras y 5 individuos sin sexar) y 16 individuos pertenecientes a Villa Pinzón (3 macho, 12 hembras y 1 individuo sin sexar), los individuos fueron expuestos a condiciones de anestesia general con aceite de clavo (*Sygium aromaticum*), en una cantidad de 30 mg/L.

a



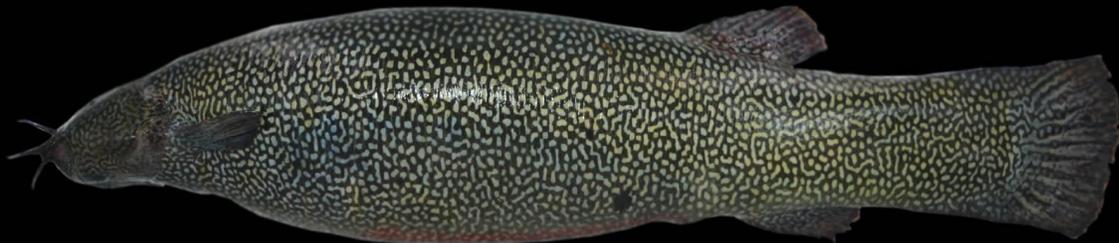
Eremophilus mutisii

b



Eremophilus mutisii

c



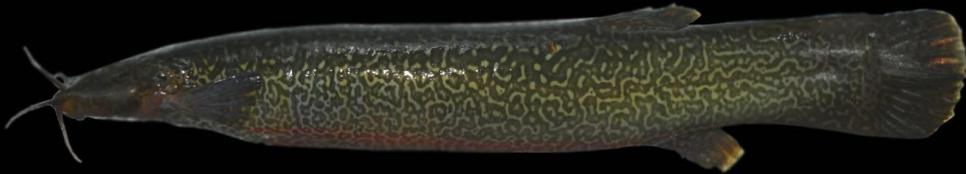
Eremophilus mutisii

d



Eremophilus mutisii

e



Eremophilus mutisii

f



Eremophilus mutisii

Figura 2. Ejemplares de capitán de la sabana según el sexo y población. (a) Hembra, Villa Pinzón. (b) Macho, Villa Pinzón. (c) Macho, Embalse de Neusa. (d) Hembra, Embalse de Neusa. (e) Macho, laguna de Cucunubá. (f) Hembra, laguna de Cucunubá. Fotografía: Leandro Rodríguez.



Figura 3. Procedimiento de medición de los ejemplares. Fotografía: Leandro Rodríguez.

Los individuos fueron referenciados mediante un chip inyectado en el lado izquierdo, para proceder con su medición morfométrica y sexaje.

MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA

Se realizó la morfometría geométrica de los 85 individuos, mediante la toma de fotografías digitales (cámara Canon M100, lente 15-45 mm) y con la ayuda de una caja de luz fotográfica ONLARS (modelo: LGY-001-2^a), se captó el lado izquierdo de cada ejemplar con las mismas condiciones de enfoque fijo, luz, contornos, ángulo de la cámara y relación de ampliación (figura 4).



Figura 4. Posición de ejemplares para la toma fotográfica. Fotografía: Leandro Rodríguez.

Los procedimientos directos con los animales para el cumplimiento de obligaciones generadas fueron realizados en conformidad con las normas para el uso de animales de laboratorio, descritas por el Committee on Care and Use of Laboratory Animal Resources (1996).

PROCESAMIENTO DE IMÁGENES

- **TPS útil 32**

Las fotografías fueron procesadas a modo de base de datos para generar un archivo Tps vacío, esto con el fin de generar una extensión de archivo .tps, importante para la entrada al software TpsDig2 (Rohlf, 2015).

- **TPS Dig264**

Después de crear el archivo (.tps), se realizó la digitalización de 12 coordenadas landmarks (figura 5), mediante el programa TPS Dig264 en cada una de las fotografías, modificando todo según el orden de nombre de archivo y estableciendo una escala de 1 cm (figura 6) (Casale *et al.*, 2017).

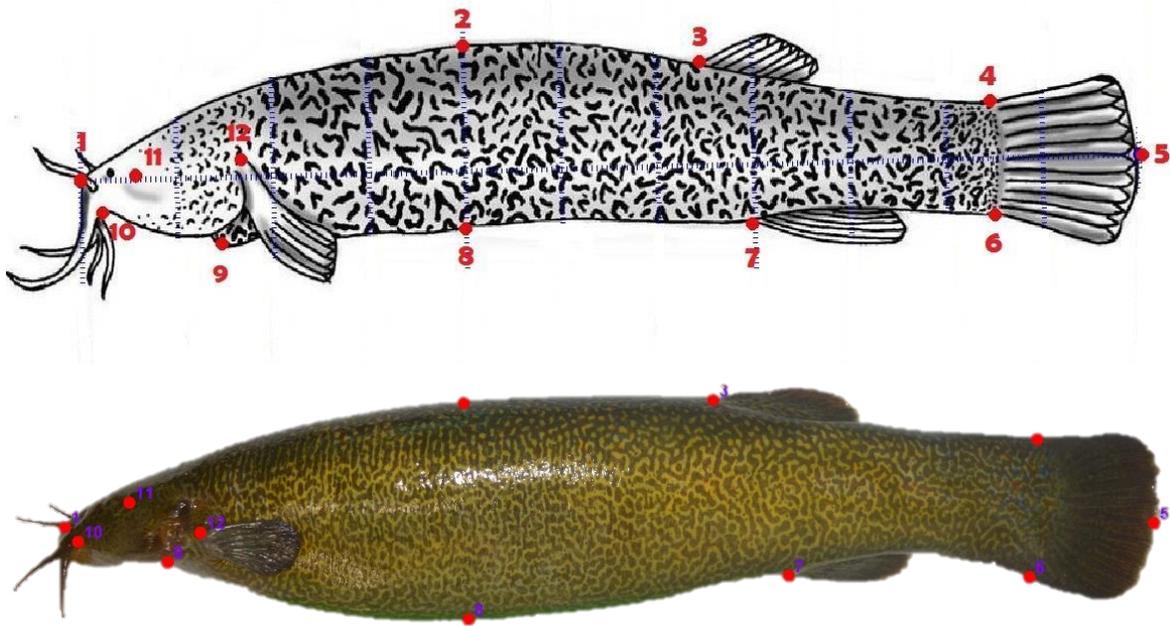
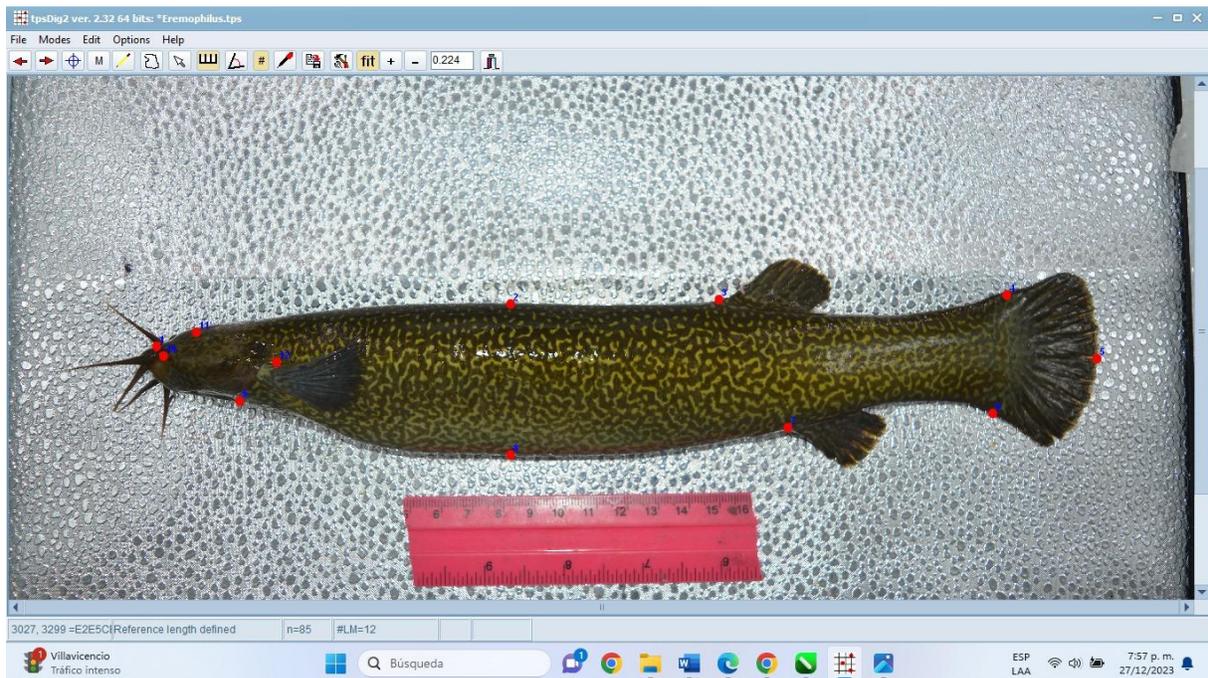


Figura 5. Disposición de las marcas anatómicas en los ejemplares. **1:** región distal del pre-maxilar. **2:** punto de altura máxima dorsal. **3:** inicio de la aleta dorsal. **4:** inicio de la aleta caudal en la zona dorsal. **5:** región media de la aleta caudal. **6:** inicio de la aleta caudal en la zona ventral. **7:** inicio de la aleta anal. **8:** punto ventral de altura máxima. **9:** parte ventral del extremo posterior del opérculo. **10:** región distal del maxilar. **11:** centro del ojo. **12:** inicio de la aleta pectoral. Ilustración: Geraldine Porrás-Rivera. Fotografía por: Leandro Rodríguez.



B

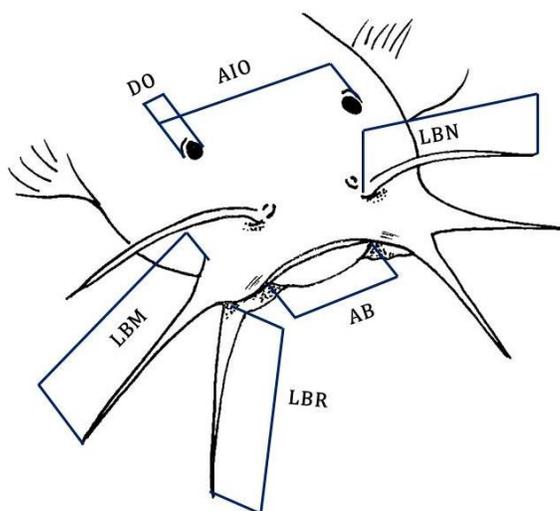


Figura 7. (A). Medidas morfométricas del contorno corporal. LT: longitud total. LE: longitud estándar. LPD: longitud pre-dorsal. LPA: longitud pre-anal. LC: longitud cabeza. APC: altura del pedúnculo caudal. AC: altura cabeza. LAP: longitud aleta pectoral. LAD: longitud aleta dorsal. LPO: longitud pre-orbital. BAD: base de la aleta dorsal. BAA: base de la aleta anal. BAP: base de la aleta pectoral. **(B)** Medidas morfométricas del contorno cefálico. AIO: ancho interorbital. AB: ancho boca. DO: diámetro ojo. LBM: longitud barbicelo maxilar. LBN: longitud barbicelo nasal. LBR: longitud del barbicelo rictal. Ilustración: Geraldine Porrás-Rivera.

Cada medida fue tomada con ayuda del pie de rey y para las estructuras corporales mayores de 10 cm se utilizó una escuadra (figura 8).

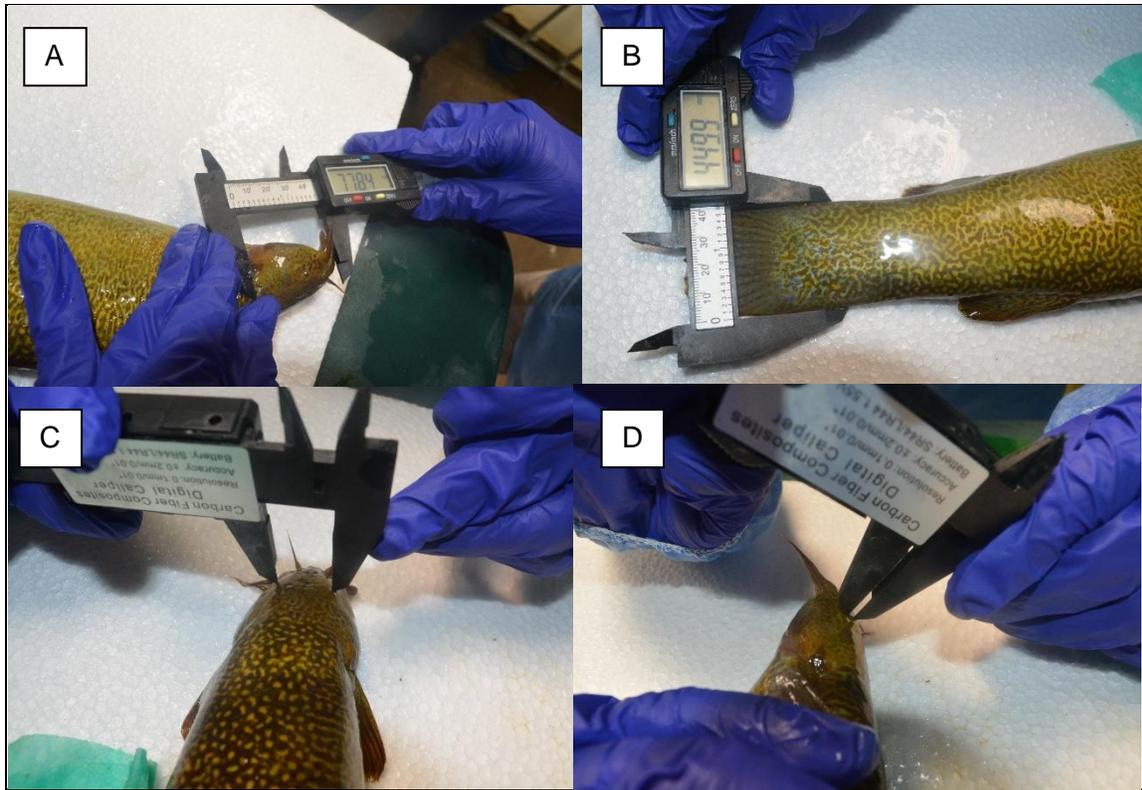


Figura 8. Medidas morfométricas de contorno de Capitán de la Sabana. (A) Longitud de la cabeza. (B) Altura del pedúnculo caudal. (C) Ancho interorbital. (D). Diámetro del ojo. Fotografía por: Camilo Prieto.

Seguidamente se registraron las medidas merísticas mediante el conteo de los radios de la aleta dorsal, anal, pectorales, dentículos del opercular e interopercular con ayuda de una lupa y un estereoscopio Nikon Model C-Leds (Lasso & Provenzano, 2002) (figura 9).

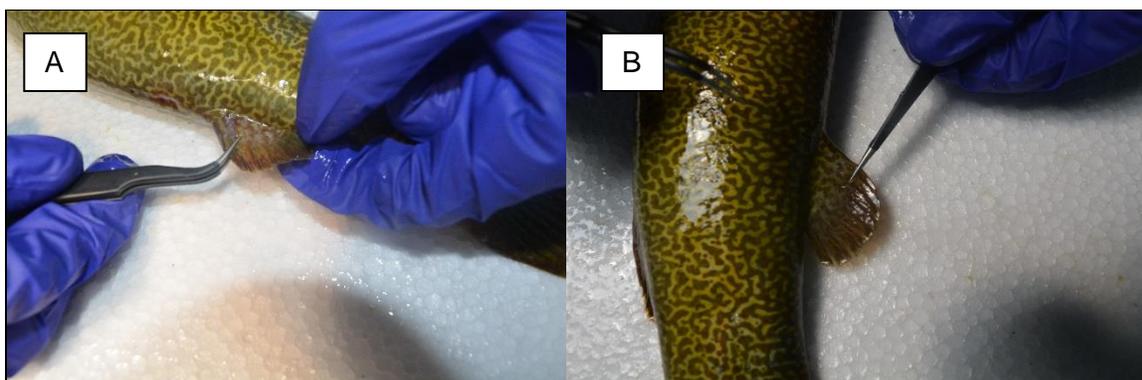


Figura 9. Medidas merísticas. (A) Conteo de radios de la aleta anal. (B) Conteo de radios de la aleta dorsal. Fotografía por: Camilo Prieto.

Procesamiento de Datos

Los datos fueron importados a RStudio 4.3.0 utilizando la función ``read.csv``. Las variables categóricas se convirtieron en factores y las variables numéricas se transformaron a tipo numérico para el análisis. Se calcularon la media y desviación estándar para cada sexo y variable morfométrica utilizando la función ``by`` y ``sapply`` (Guisande-González, 2013).

Análisis Estadístico

Se realizaron histogramas para explorar la distribución de la longitud total (LT), la longitud estándar (LE) y el ancho de la cabeza (AC) por sexo. La normalidad de las distribuciones se evaluó usando la prueba de Shapiro-Wilk. Se empleó la prueba U de Mann-Whitney para comparar las diferencias en LT y AC entre sexos, y el t-test para LE. Además, se calcularon las correlaciones de Pearson y Spearman entre LT y LE para evaluar la relación entre ambas medidas.

RESULTADOS

MORFOMETRÍA GEOMETRICA

Seguido del procesamiento de las imágenes para la morfometría geométrica, el ANOVA de Procrustes (tabla 1) permitió establecer que el valor del cuadrado medio de los individuos fue mayor al error ($MS_{\text{individuo}} 0,0008115135 > MS_{\text{error}} 0,0000718723$), demostrando que la digitalización de los landmarks se desempeñó correctamente (figura 10).

Tabla 1. ANOVA de Procrustes para verificar la digitalización y calcular el error de medición para el set de datos de individuos a través del tamaño del centroide y la forma de capitán de la sabana en las poblaciones de Neusa, Cucunubá y Villa Pinzón.

```
Procrustes ANOVA: Procrustes ANOVA Error
Dataset: Ejemplo 1

Classifiers used for the Procrustes ANOVA:
Individuals: Species
Error 1: Sex

Centroid size:
Effect      SS          MS          df          F          P (param.)
Individual  2963,688104    1481,844052    2          40,50      0,0068
Error 1    109,778961    36,592987     3          1,88      0,1394
Residual   1536,068344    19,443903     79

Shape, Procrustes ANOVA:
Effect      SS          MS          df          F          P (param.)  Pillai tr.  P (param.)
Individual  0,03246054  0,0008115135  40         11,29      <.0001
Error 1    0,00431234  0,0000718723  60         1,22      0,1219      1,05      0,0048
Residual   0,09297268  0,0000588435  1580
```

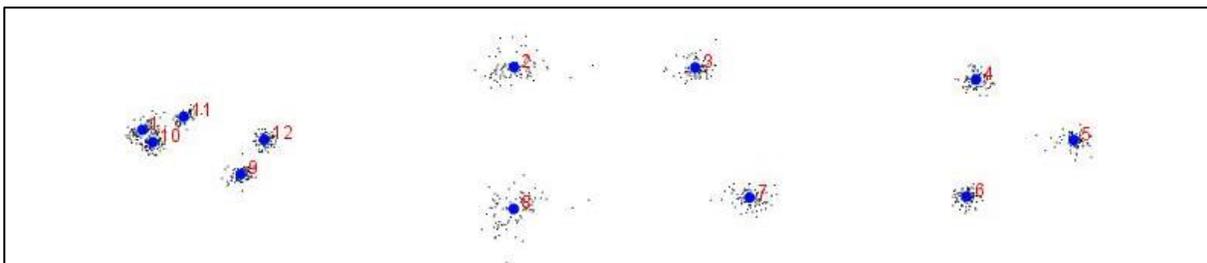


Figura 10. Análisis preliminar de Procrustes como método preliminar de covarianza.

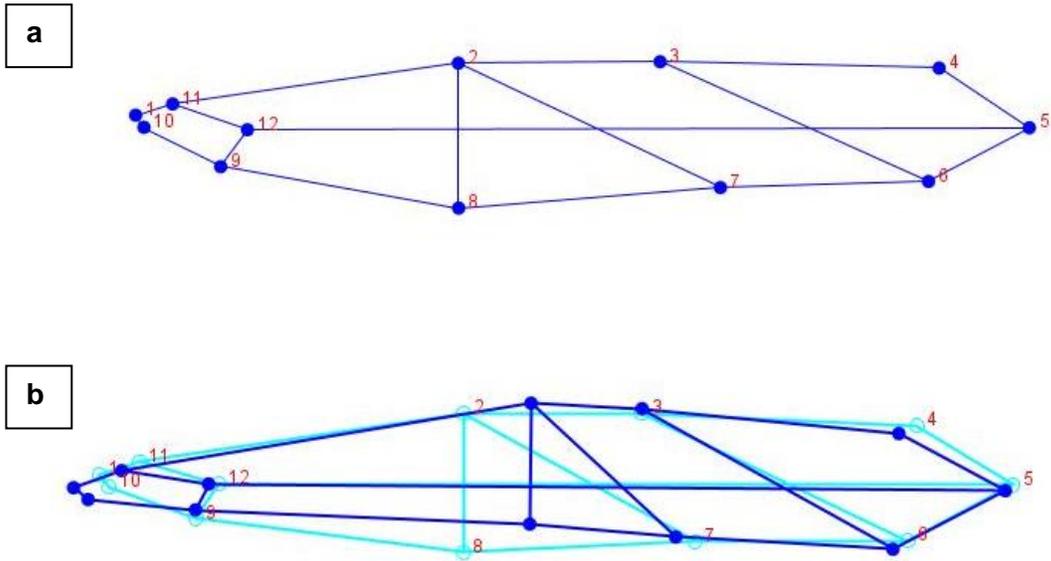


Figura 11. Wireframe: ubicación de hitos y vectorización de landmarks. (a) Wireframe aumentado y sin promedio. (b) Wireframe con promedio (líneas azules=promedio)

Mediante el gráfico Wireframe (figura 10a), se obtuvo la forma promedio de las 3 poblaciones de capitán de la sabana dentro de cada set de datos, así como una segunda silueta (figura 10b) del promedio con variaciones de deformación observadas, contribuyendo a la visualización de la forma final.

De igual manera, mediante el análisis de componentes principales (PCA), para el set de datos de individuos de Laguna Cucunubá, se logra evidenciar diferencias gráficas en el PCA 1 (Figura 12). A su vez, se logra observar la conformación de un grupo solapado en el lado de negativo de PCA 1 de los individuos del Embalse de Neusa y Villa Pinzón. De modo que, el componente principal 1 y el componente principal 2 explican el 60,747 % de la variación total de la forma (CP1 43,998 %; CP2 16,749 %) (figura 13; tabla 2), lo que inferencialmente indica que la población evaluada podría tener un patrón determinante en la forma del total de los individuos analizados, sin embargo, debido al solapamiento de cada una de los contornos corporales, se sugiere que en su mayoría todos los individuos presentan alta afinidad morfológica.

Tabla 2. Análisis de componentes principales de los individuos de las 3 poblaciones (Neusa, Cucunubá y Villa Pinzón).

Principal Component Analysis: PCA: CovMatrix, Ejemplo 1, Procrustes coordinates			
	Eigenvalues	% Variance	Cumulative %
1.	0,00067959	43,998	43,998
2.	0,0002587	16,749	60,747
3.	0,0001433	9,278	70,025
4.	0,00011885	7,695	77,719
5.	0,00009521	6,164	83,883
6.	0,00005612	3,633	87,517
7.	0,0000466	3,017	90,534
8.	0,00002921	1,891	92,425
9.	0,00002752	1,782	94,207
10.	0,00002191	1,418	95,625
11.	0,00002018	1,306	96,931
12.	0,00001131	0,732	97,663
13.	0,00000892	0,578	98,241
14.	0,00000755	0,489	98,73
15.	0,00000532	0,345	99,074
16.	0,00000386	0,25	99,324
17.	0,00000374	0,242	99,566

18.	0,00000295	0,191	99,757
19.	0,00000257	0,167	99,924
20.	0,00000118	0,076	100

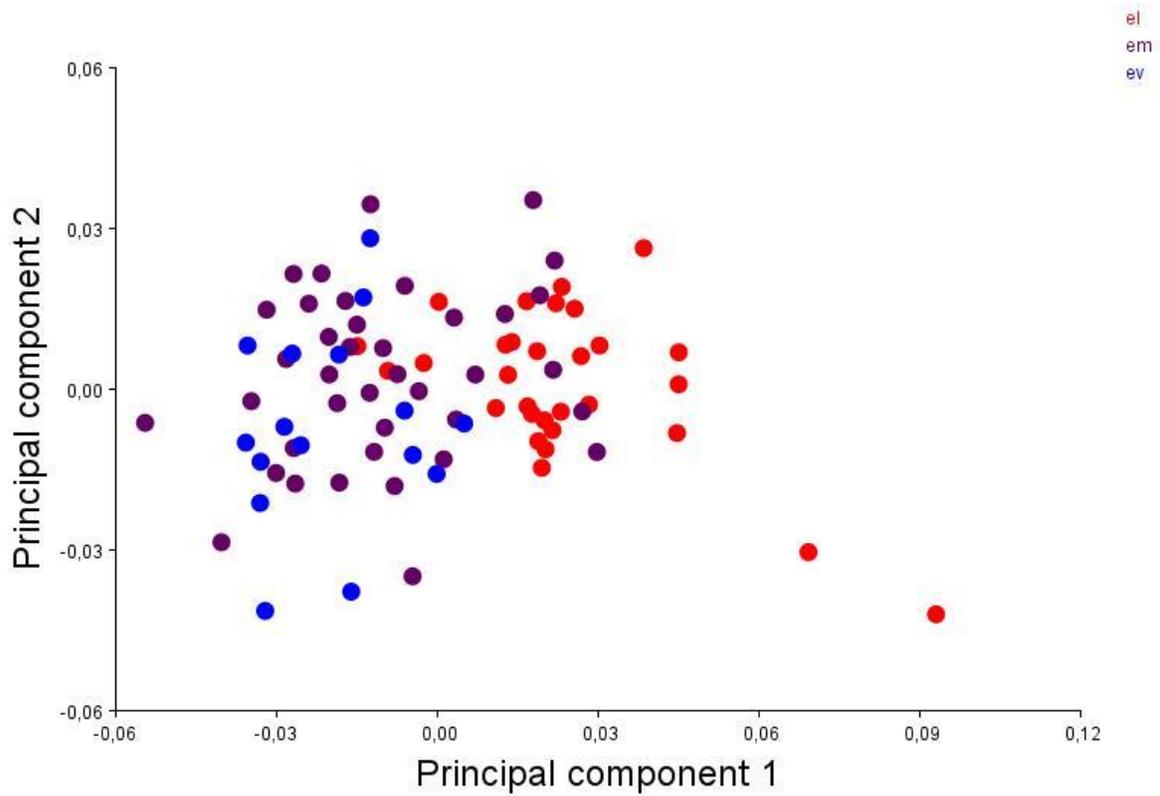


Figura 12. Análisis de componentes principales (PCA) por población. Color rojo: Laguna Cucunubá. Color morado: Embalse de Neusa. Color azul: Villa Pinzón.

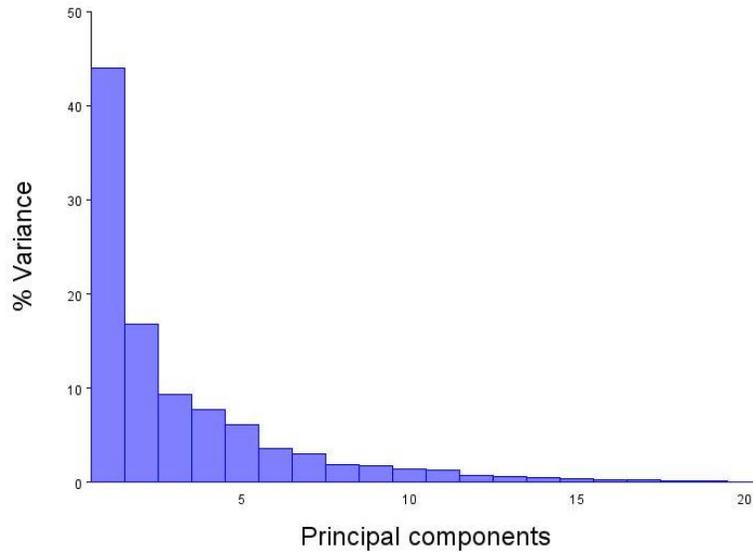


Figura 13. Varianza de las 20 componentes principales. Componentes principales = $2K-4$. Donde k=número de landmarks.

El efecto de la varianza de cada dimensión intuyo diferenciación de contorno corporal evidenciado en el PCA por sexo (figura 14), de los individuos de las 3 poblaciones muestreadas. De modo que, las hembras tienden a presentar un contorno corporal diferente a los machos.

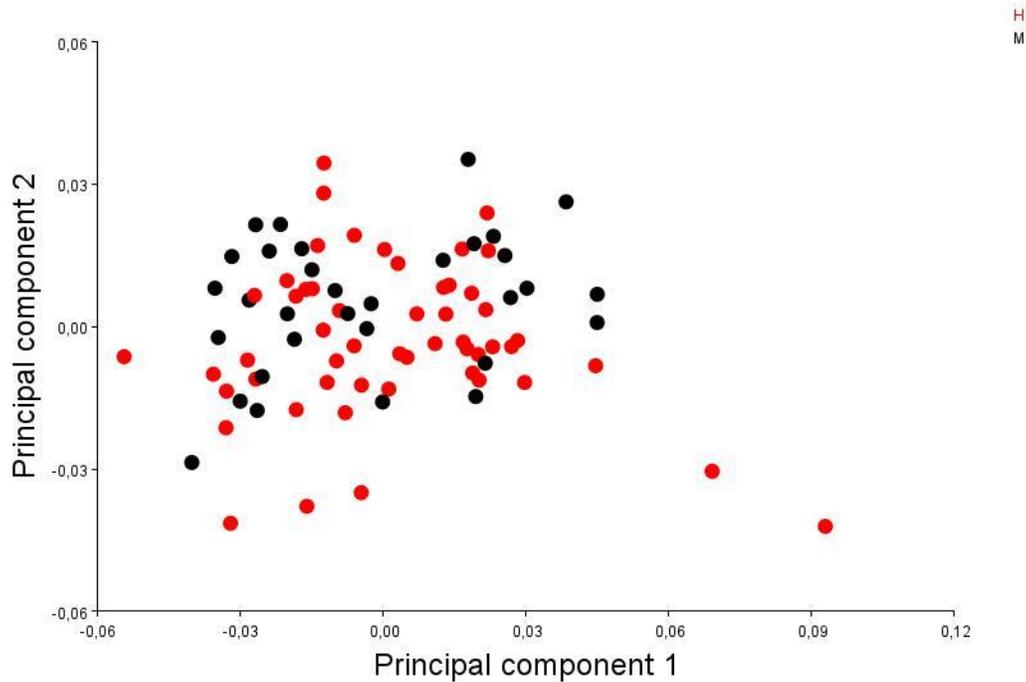


Figura 14. PCA según el sexo de los individuos presentes en las poblaciones de Cucunubá, Neusa y Villa Pinzón. Color rojo: hembras. Color negro: Machos.

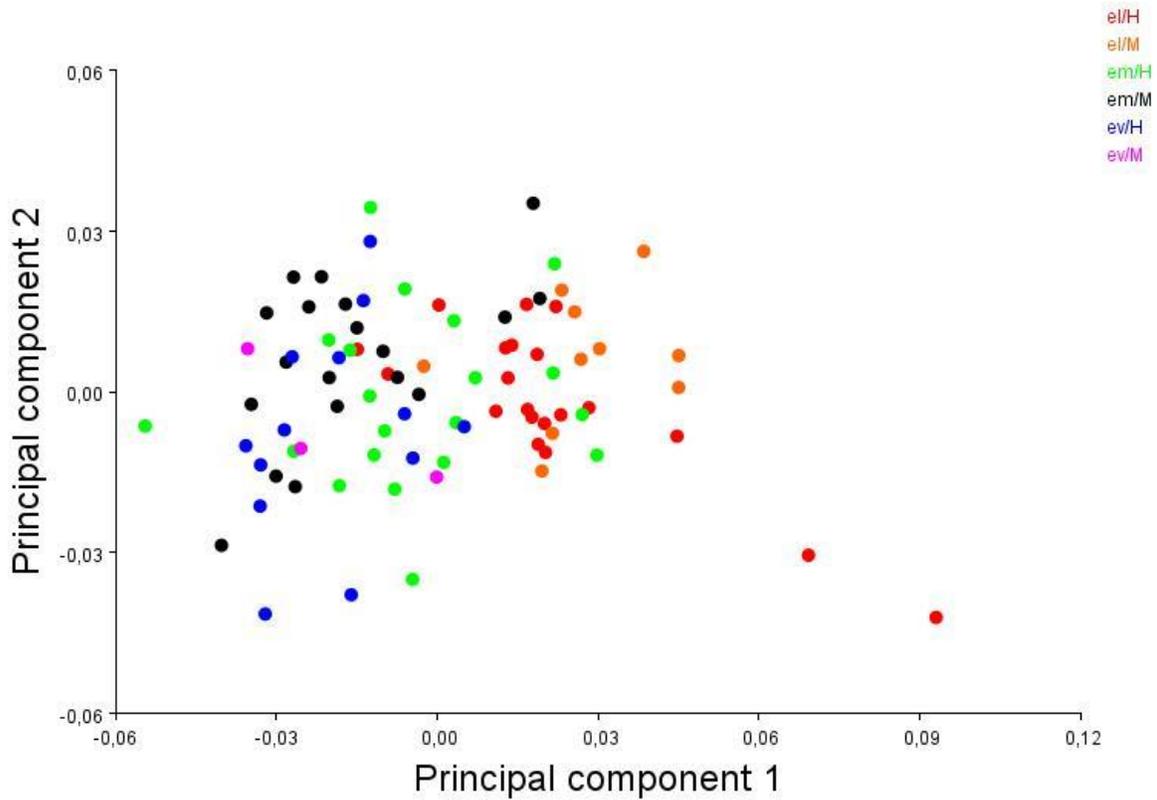


Figura 15. PCA de la correlación de individuos según sexo. Rojo: Cucunubá/Hembras (el/H). Naranja: Cucunubá/Machos (el/M). Verde: Neusa/Hembras (em/H). Negro: Neusa/Machos (em/M). Azul: Villa Pinzón/Hembras (ev/H). Rosado: Villa Pinzón/Machos (ev/M).

El contorno corporal de los individuos según el sexo-población, fue evidente para la población de Cucunubá (figura 15), con inferencias de no solapamiento a comparación con los demás componentes.

Para verificar las inferencias anteriores, se procedió a realizar un PCA de la forma promedio del contorno (figura 16), evidenciando nuevamente que la población Cucunubá presenta diferencias corporales.

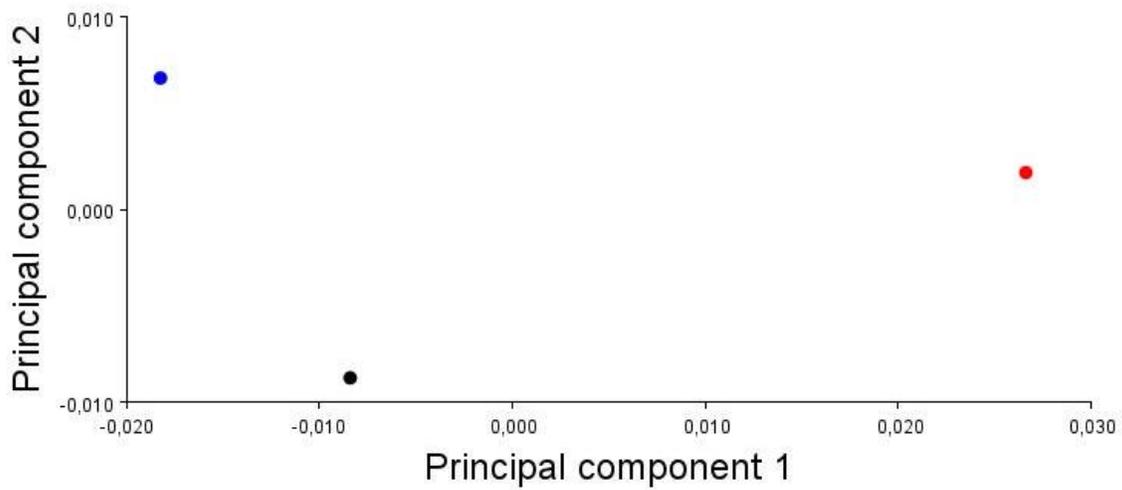


Figura 16. PCA de la forma promedio del contorno corporal de cada población. Azul: Neusa. Negro: Villa Pinzón. Rojo: Cucunubá.

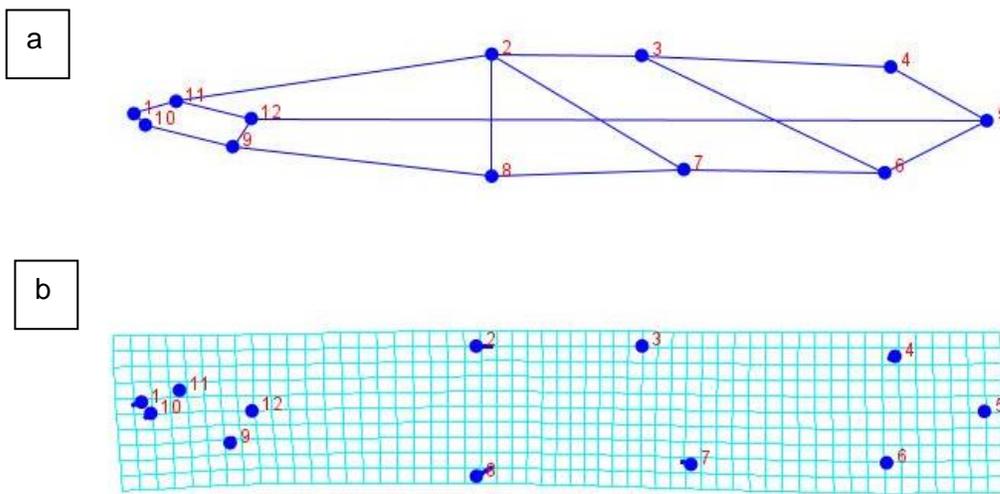


Figura 17. (a) Forma promedio del contorno corporal y (b) gradilla de deformación de la población de la laguna de Cucunubá.

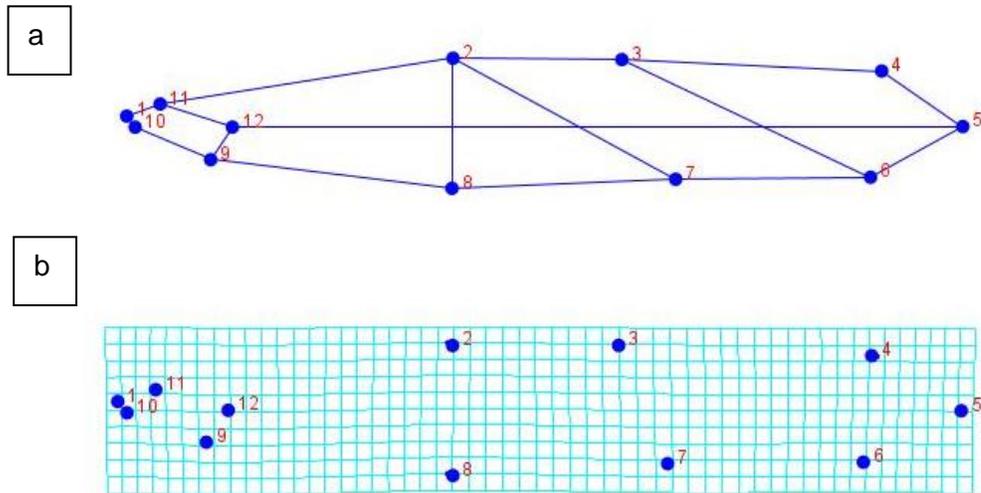


Figura 18. (a) Forma promedio del contorno corporal y (b) gradilla de deformación de la población del Embalse de Neusa.

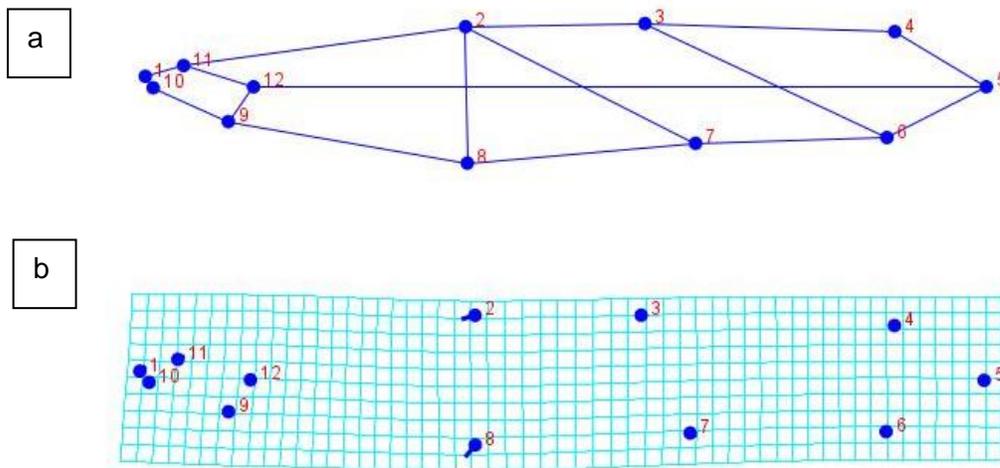


Figura 19. (a) Forma promedio del contorno corporal y (b) gradilla de deformación de la población de Villa Pinzón.

Las cuadrículas de deformación del promedio de los ejemplares de cada población (figura 17,18, 19), indican que las poblaciones difieren mínimamente entre sí, por regiones corporales de la altura máxima ventral y dorsal, incluso por zonas del contorno cefálico (específicamente en la población de Cucunubá), posiblemente estos tamaños de diversas regiones pueden responder a un crecimiento alométrico.

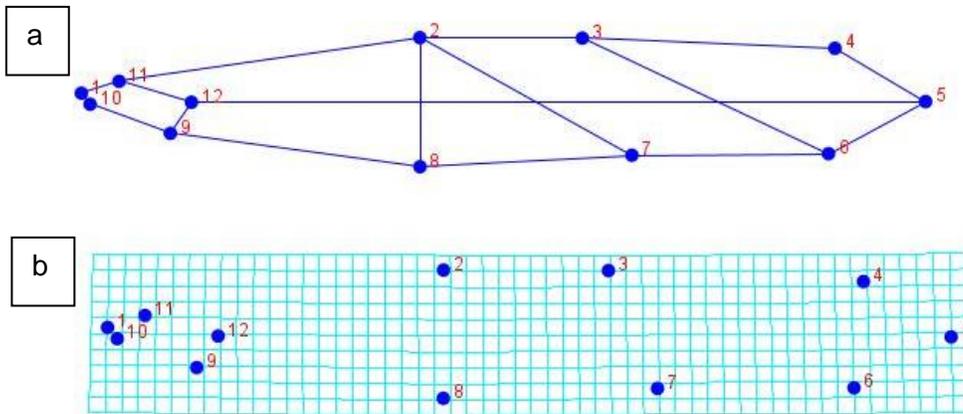


Figura 20. (a) Forma promedio del contorno corporal y (b) gradilla de deformación en hembras.

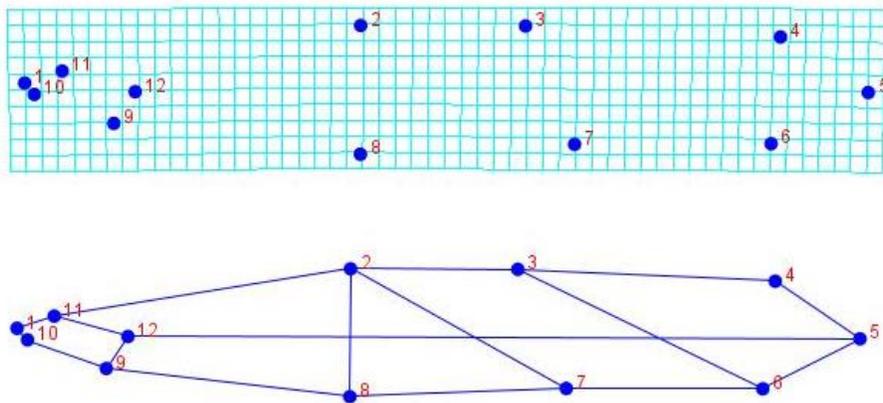
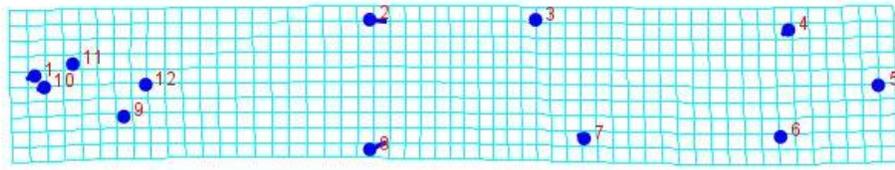


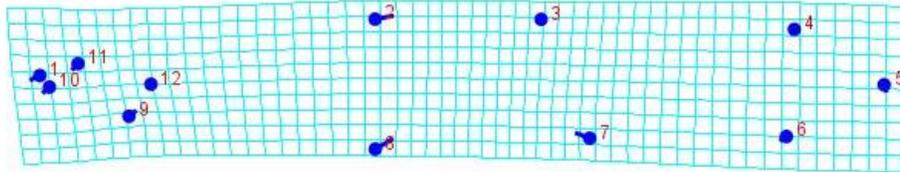
Figura 21. (a) Forma promedio del contorno corporal y (b) gradilla de deformación en machos.

Según las gradillas de deformación (figura 20, 21), dentro de las 3 poblaciones no existen diferencias según sexo.

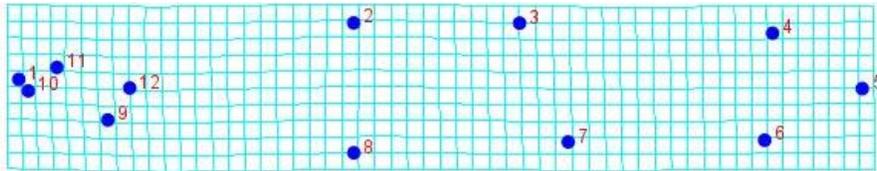
(a) Cucunubá/Hembra



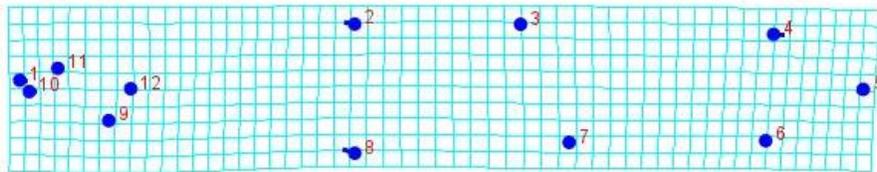
(b) Cucunubá/Macho



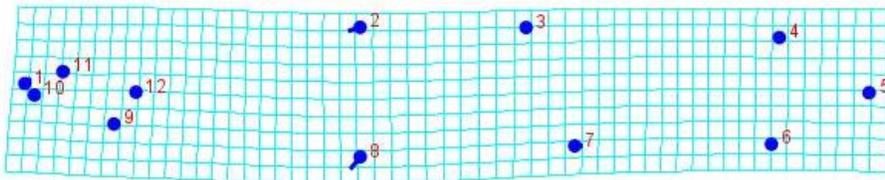
(c) Neusa/Hembra



(d) Neusa/Macho



(e) Villa Pinzón/Hembra



(f) Villa Pinzón/Macho

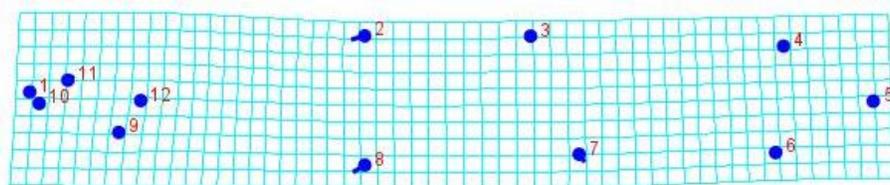


Figura 22. (a-f) Gradillas de deformación según la población y el sexo.

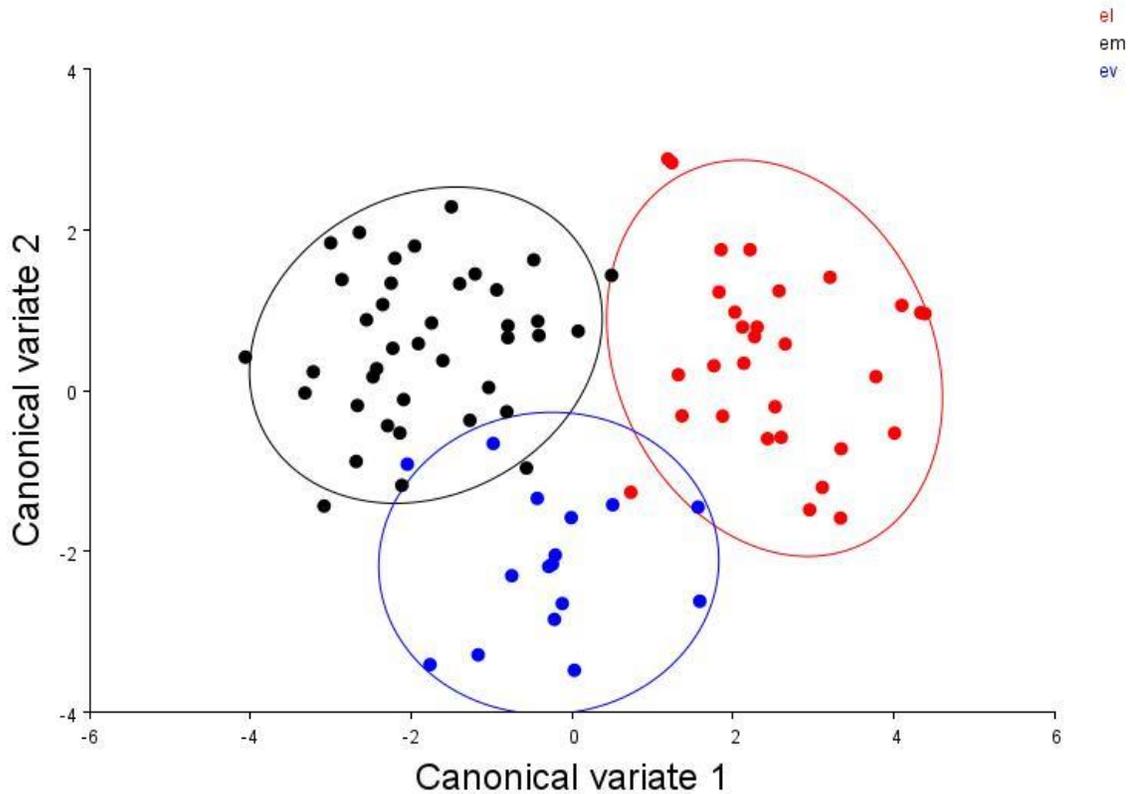


Figura 23. Análisis de varianza canónica (CVA) de las 3 poblaciones. Negro: Neusa. Rojo: Cucunubá. Azul: Villa Pinzón.

De acuerdo a la figura 23, el análisis de covarianza de procrustes asociados a la variación máxima, menciona que existe diferenciación entre las poblaciones de Villa Pinzón y Neusa, a su vez, la formación de clúster de Cucunubá infiere en tener características corporales diferentes.

En el derivado del CVA de los individuos de las 3 poblaciones, se obtuvieron 24 ejes canónicos significativos. El porcentaje de varianza explicada en la primera variable canónica (CV por sus siglas en inglés) fue de 77.854% para la forma corporal (Pillai's trace: 1,3234; P-value: <.0001).

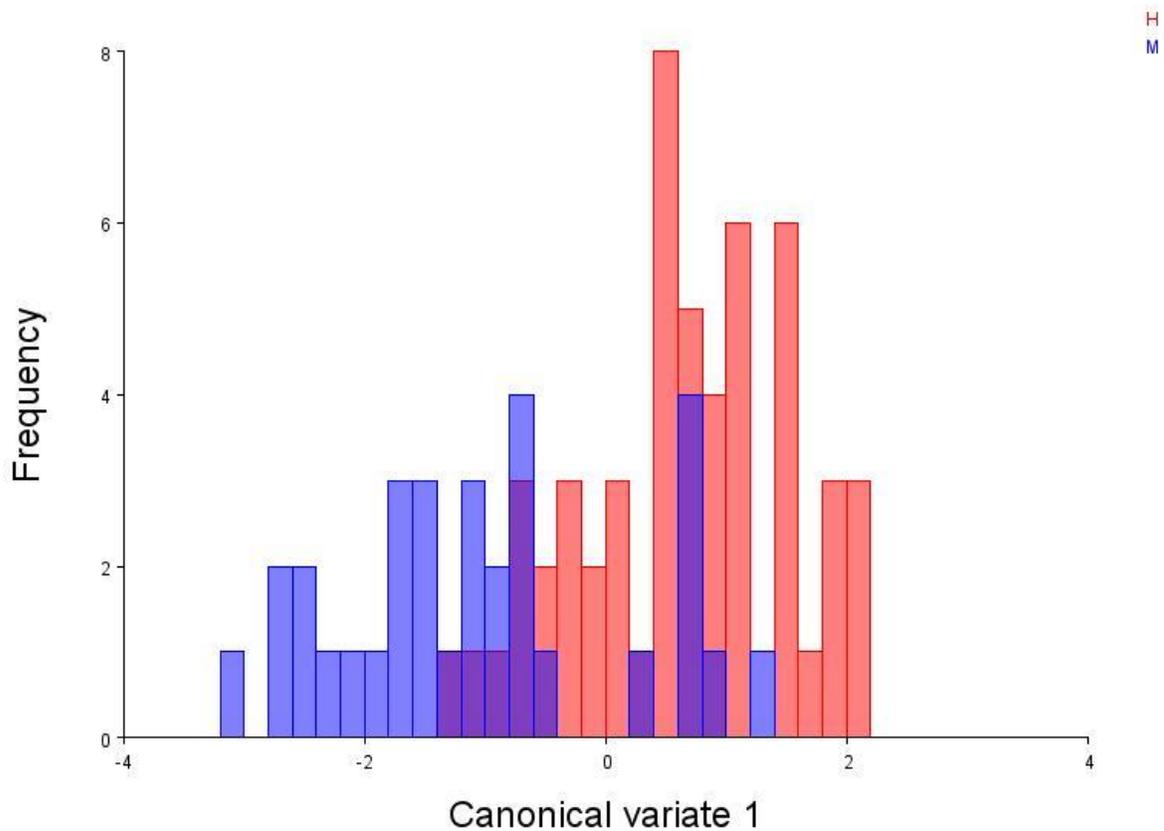


Figura 24. Análisis de varianza canónica (CVA) de las 3 poblaciones según el sexo. Rojo: Hembras. Azul: Machos.

En el derivado del CVA de los individuos de las 3 poblaciones según el sexo, el porcentaje de varianza explicada en la primera variable canónica fue de 100% para la forma corporal (Pillai's trace: 0,4047, P-value: 0,0089). Demostrando así, una diferenciación entre machos y hembras.

Para observar la diferencia según el tamaño de los individuos por población, el análisis de regresión indicó una alometría del 13,6332%, de modo que, el análisis de residuales consolidó los resultados demostrando así que no existen diferencias entre las poblaciones (figura 25, 26).

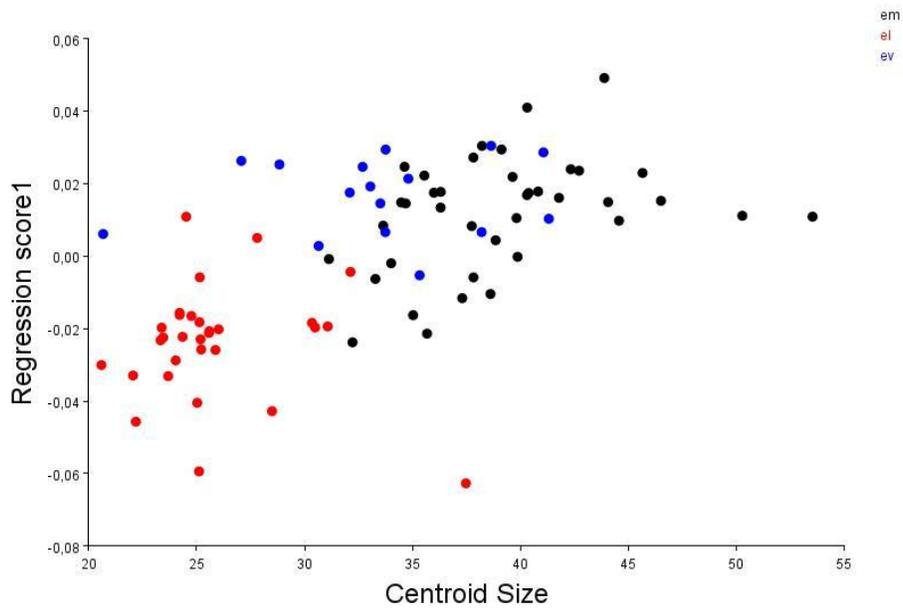


Figura 25. Análisis de regresión de las 3 poblaciones (Neusa, Cucunubá, Villa Pinzón).

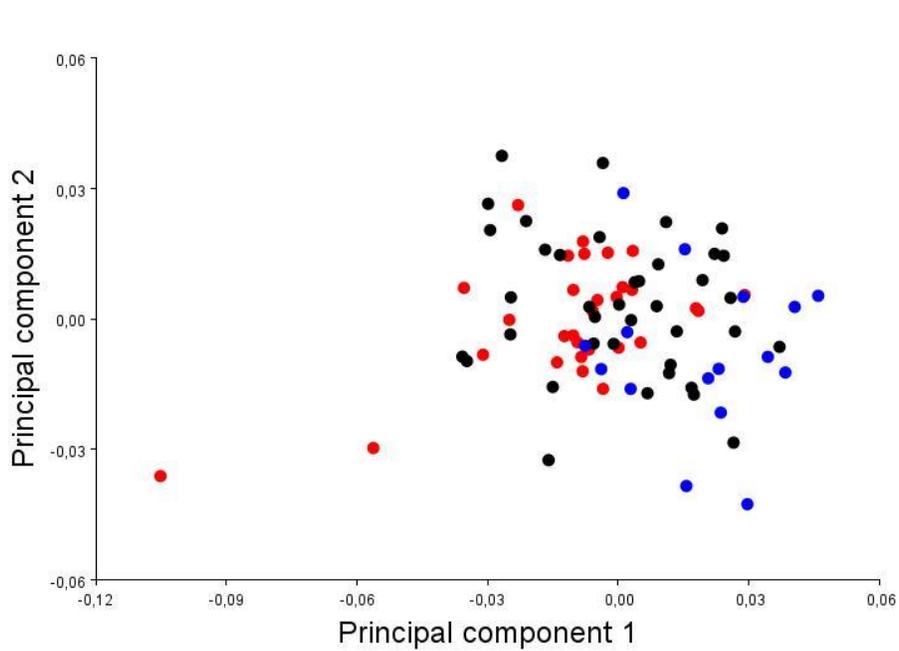
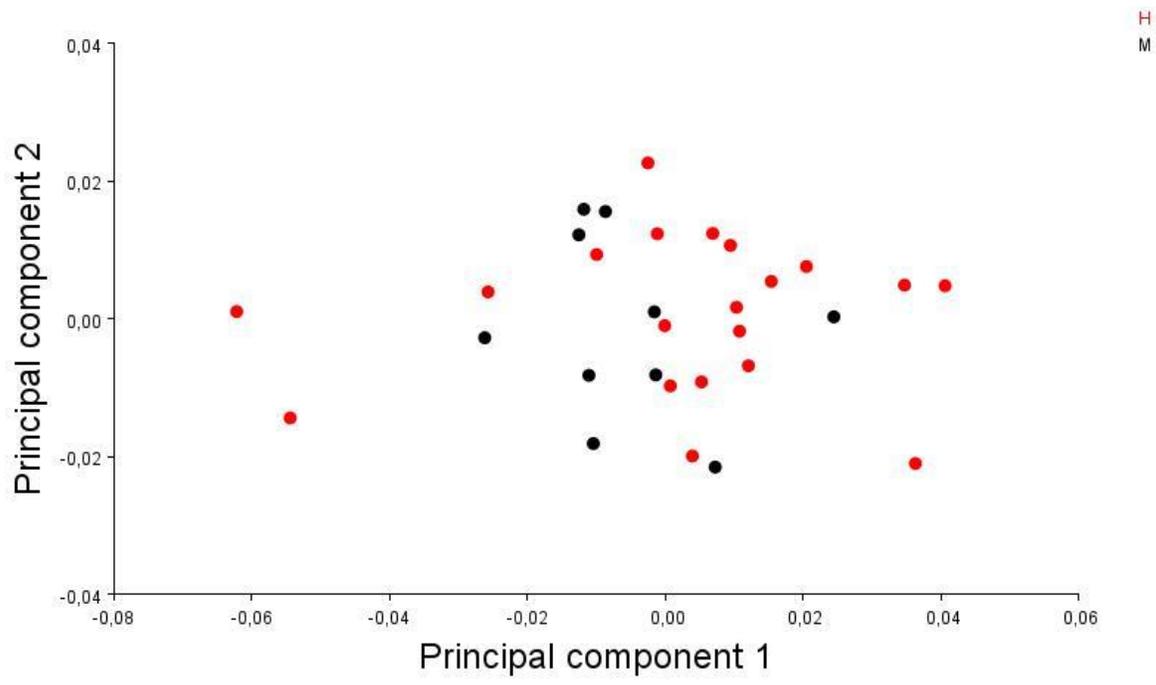
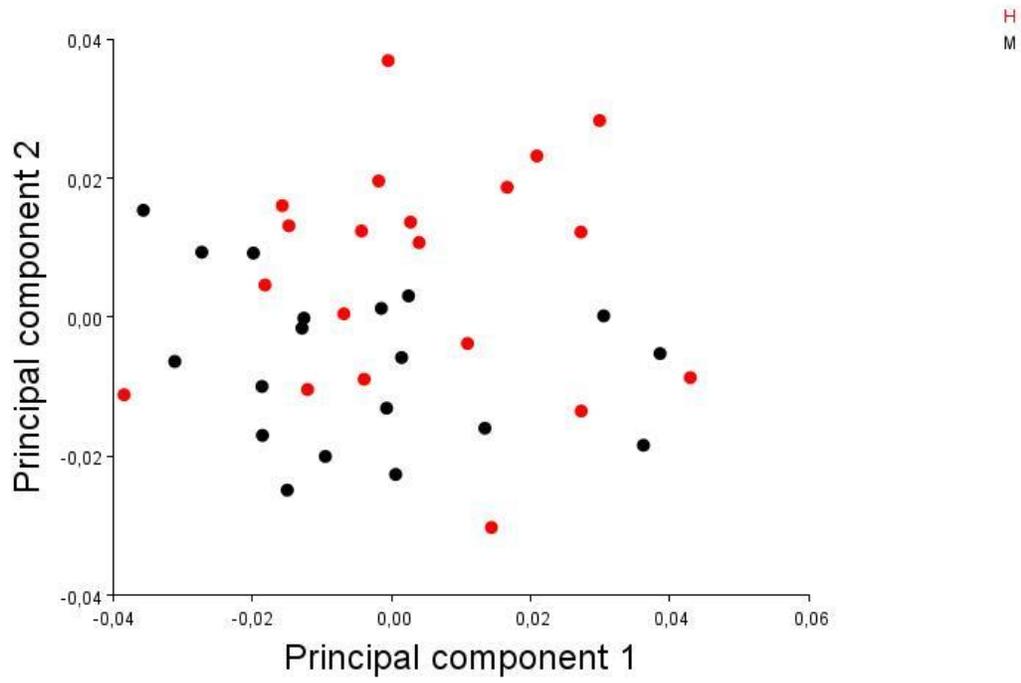


Figura 26. PCA de los residuales del análisis de regresión.

(a)



(b)



(c)

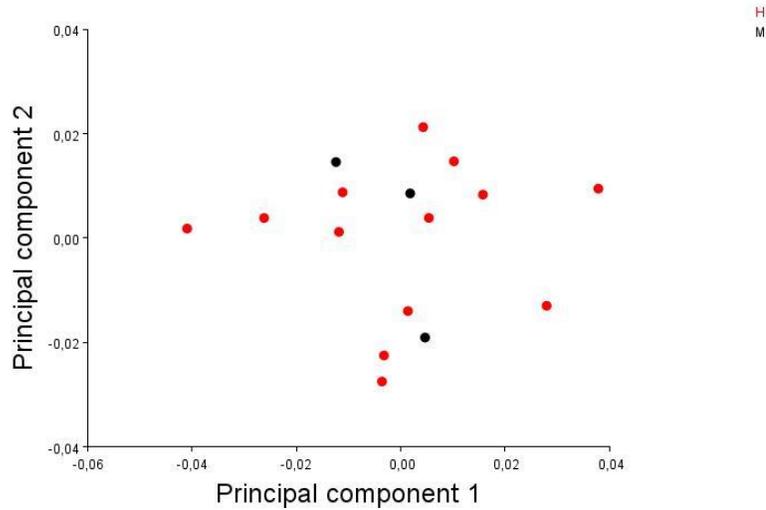


Figura 27. PCA del análisis de regresión residual. (a) Cucunubá: (b) Neusa. (c) Villa Pinzón. Rojo: Hembra. Negro: Macho.

De acuerdo con la figura 27, la dispersión de los puntos en las componentes principales de muestra una diferenciación entre machos y hembras en cada una de las poblaciones.

Con el fin de comprobar si existen estructuras independientes a nivel ecomorfológico se evalúa la hipótesis de modularidad:

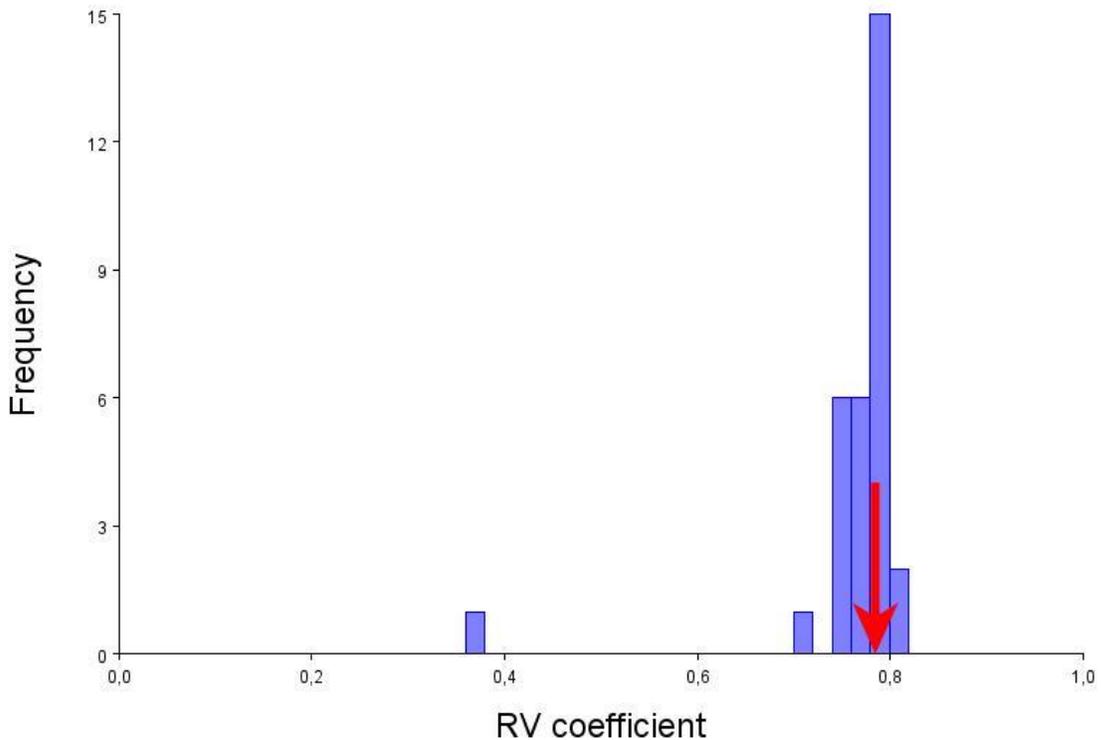


Figura 28. Efecto de covariación de la hipótesis de modularidad.

De acuerdo con el valor de “rv”, la tendencia de las formas se rige hacia la derecha con un valor de 0,8 (RV coefficient: 0,784191), demostrando incluso la posición del vector flecha a la derecha del Dataset, concluyendo que no hay modularidad e identificando que las estructuras de contorno corporal presentan un alto nivel de integración.

MORFOMETRÍA LINEAL Y MERÍSTICA

Tabla 3. Media y desviación estándar para cada sexo y variable morfométrica.

Medidas	Hembra		Macho	
	mean	sd	mean	sd
LT	32.7	6.7	30.1	1.9
LE	27.7	3.4	25.9	2.3
LPD	18.5	3.2	17.1	1.1
LPA	19.8	2.5	19.2	1.2
LC	4.3	0.5	4.2	0.5
APC	4.0	0.7	3.8	0.6
AC	2.8	0.4	2.7	0.4
LAP	2.5	0.4	2.5	0.4
LAD	3.0	0.4	2.8	0.5
LPO	4.2	0.6	4.1	0.4
BAD	3.3	0.6	3.0	0.4
BAA	2.5	0.5	2.3	0.3
BAP	0.7	0.1	0.7	0.1
AIO	2.1	0.3	2.0	0.2
AB	1.4	0.3	1.4	0.2
DO	0.4	0.3	0.3	0.1
LBM	2.0	0.4	1.9	0.3
LBN	1.8	0.3	1.6	0.3
LBR	1.8	0.4	1.7	0.3

Tabla 4. Mínimo y máximo para cada sexo y variable morfométrica.

Medidas (cm)	Hembra		Macho	
	min	max	min	max
LT	26.2	57.2	27.1	35.1
LE	22.9	36.2	21.1	31.4
LPD	15.1	29.1	15.5	20.5
LPA	15.2	26.3	17.5	22.1
LC	3.57	5.31	3.42	5.42
APC	3.2	5.79	2.95	4.88
AC	2.37	3.87	2.24	3.71
LAP	1.83	3.23	2.01	3.47
LAD	2.32	3.6	2.19	3.77
LPO	2.8	5.31	3.42	4.8

BAD	2.23	4.1	2.21	3.72
BAA	1.78	3.39	1.61	2.98
BAP	0.52	1.05	0.28	0.93
AIO	1.7	2.89	1.44	2.35
AB	0.29	1.97	0.93	1.71
DO	0.15	1.56	0.11	0.62
LBM	1.34	2.69	1.39	2.57
LBN	1.24	2.33	1.15	2.03
LBR	1.16	2.49	1.26	2.36

Descripción Morfométrica

La longitud total (LT) promedio para hembras fue de 32.74 cm con una desviación estándar (SD) de 6.73 cm, mientras que para machos fue de 30.09 cm (SD = 1.91 cm). La longitud estándar (LE) promedio para hembras fue de 27.71 cm (SD = 3.38 cm), y para machos fue de 25.94 cm (SD = 2.31 cm).

Distribución y Normalidad

Los histogramas indicaron diferencias en la distribución de medidas por sexo. La prueba de Shapiro-Wilk reveló una distribución no normal para LT en hembras ($p = 0.0001345$) y AC en hembras ($p = 0.004497$), mientras que las distribuciones para machos no mostraron desviaciones significativas de la normalidad para estas medidas.

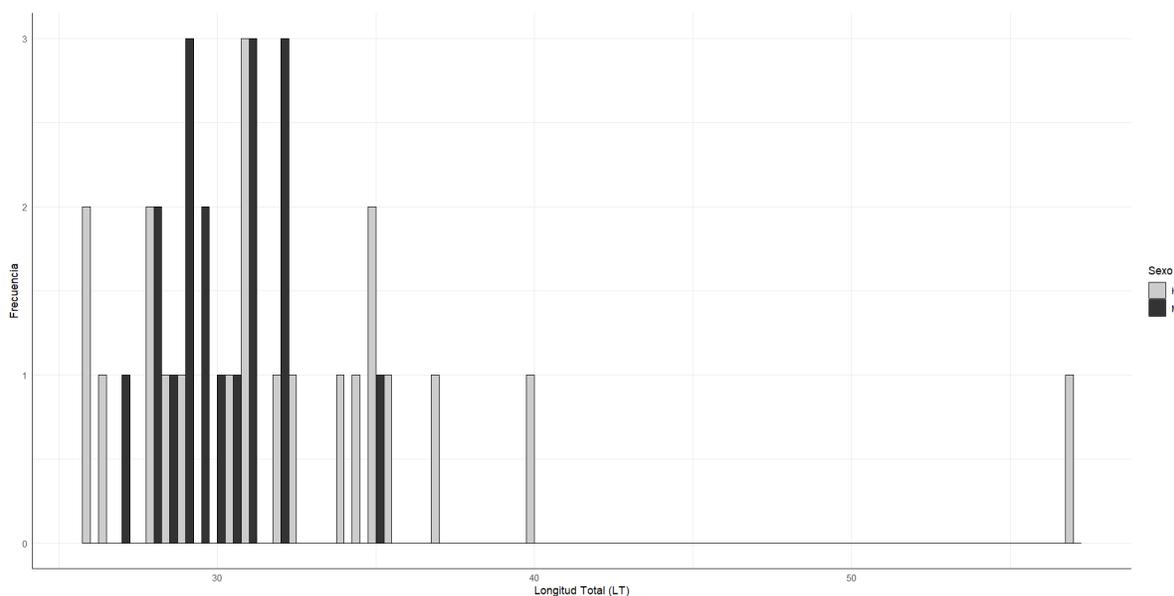


Figura 29. Histograma de medida morfométrica de Longitud Total por sexo.

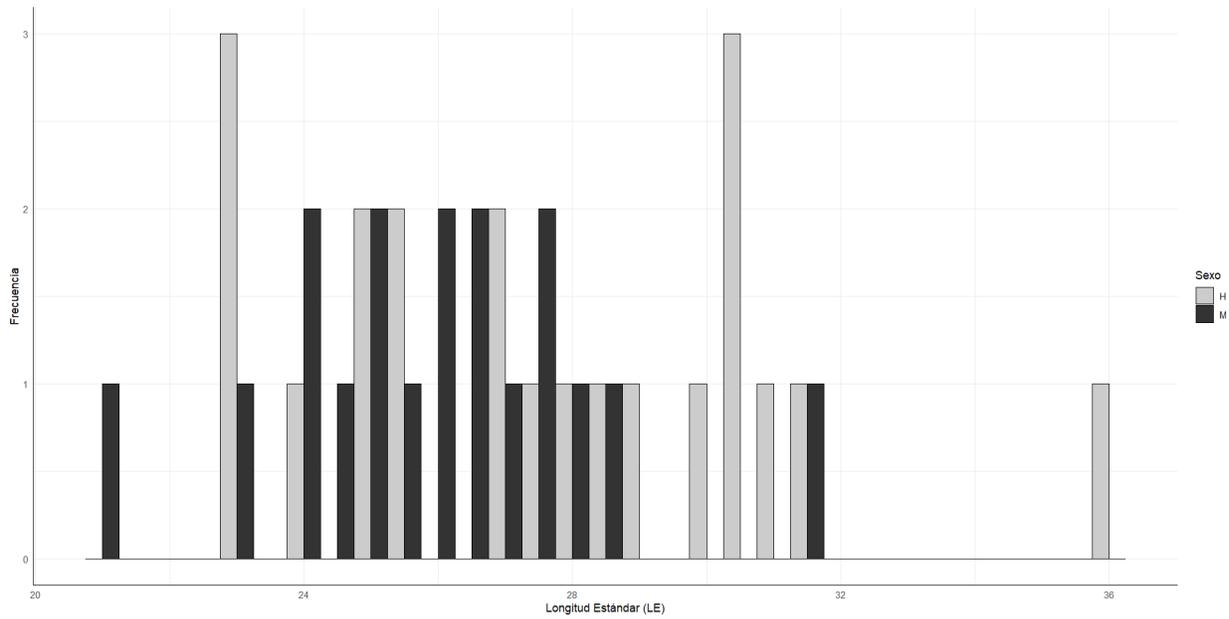


Figura 30. Histograma de medida morfométrica de Longitud Estándar por sexo.

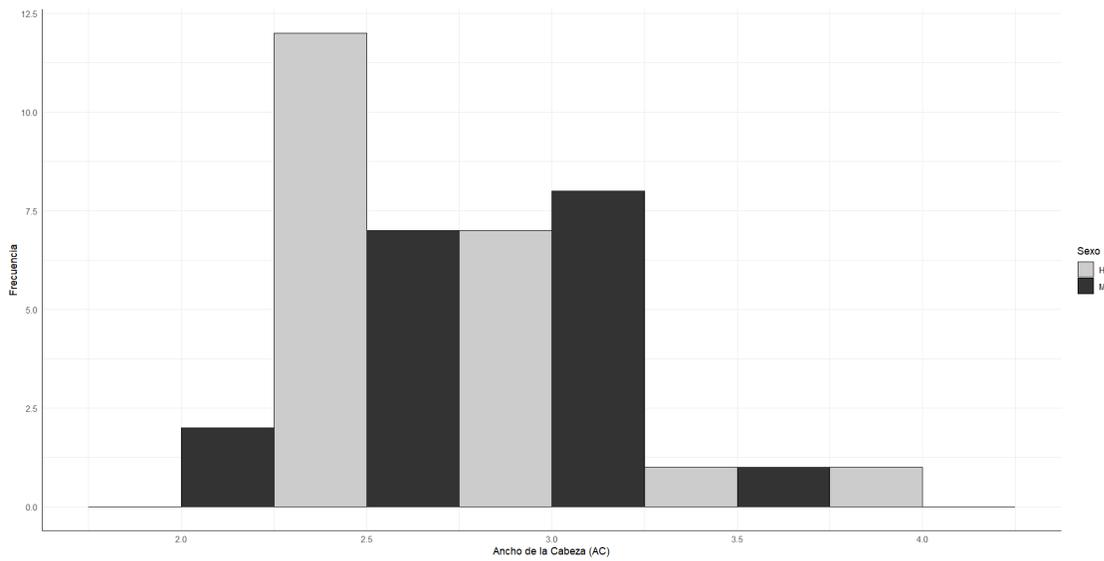


Figura 31. Histograma de medida morfométrica de Longitud de la cabeza por sexo.

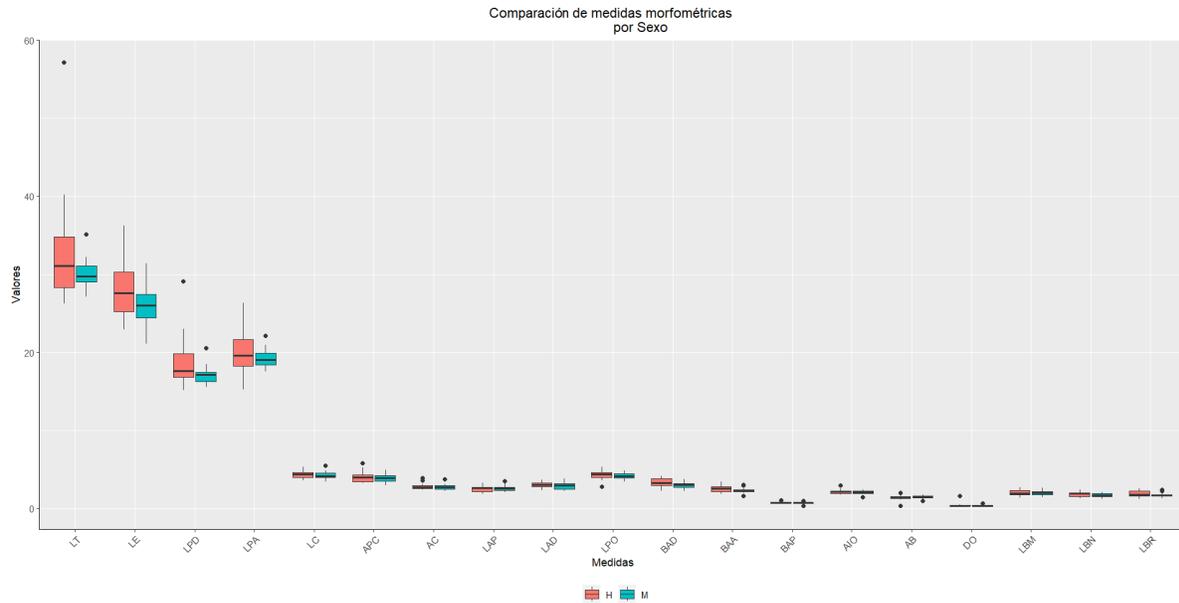


Figura 32. Boxplot para todas las medidas morfométricas por sexo.

Comparaciones Entre Sexos

La prueba U de Mann-Whitney no mostró diferencias significativas en LT ($p = 0.2201$) ni AC ($p = 0.7673$) entre hembras y machos. El t-test para LE mostró una tendencia no significativa ($p = 0.06078$), sugiriendo una posible diferencia en la longitud estándar entre sexos.

Correlaciones

Se encontró una correlación significativa entre LT y LE, con una correlación de Pearson de 0.419 ($p = 0.007892$) y una correlación de Spearman más fuerte de 0.802 ($p < 0.0001$), indicando una relación positiva entre estas medidas morfométricas.

Los análisis estadísticos mostraron variabilidad en las medidas morfométricas entre sexos, con algunas tendencias en las diferencias entre hembras y machos. La correlación entre longitud total y estándar fue positiva y significativa, lo que sugiere una relación proporcional entre estas medidas en la muestra estudiada. Las pruebas de normalidad y las comparaciones de medidas entre sexos proporcionaron información sobre la estructuración de los datos y las diferencias potenciales relacionadas con el dimorfismo sexual en la especie analizada.

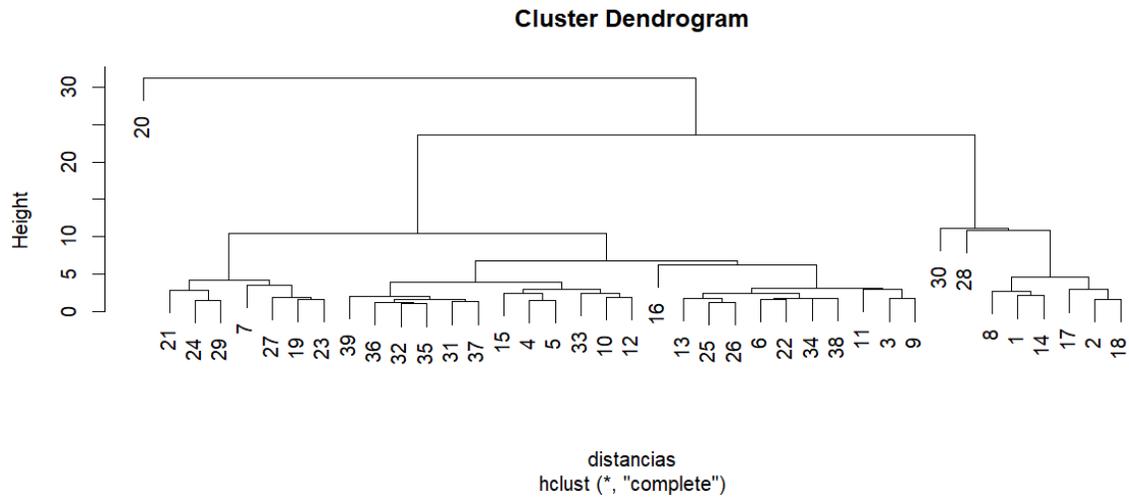


Figura 33. Análisis de clúster jerárquico.

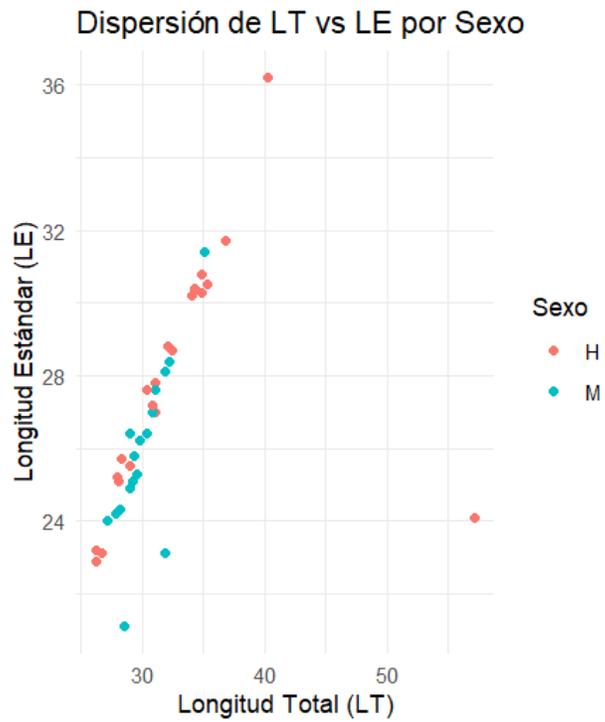


Figura 34. Gráfico de dispersión para LT vs LE por Sexo.

DISCUSIÓN

El tamaño de los ejemplares analizados puede variar según el sexo, esto coincide con los estudios reportados actualmente (Landines *et al.*, 2017; Moreno *et al.*, 2019). Hasta el momento, no existen muchos estudios sobre la caracterización morfológica a nivel geométrico del capitán de la sabana según una diferenciación geográfica, de modo que, se evidencia la importancia de métodos estadísticos descriptivos como los análisis de variables canónicas (Valdivia *et al.*, 2008). El uso del ANOVA de Procrustes corrobora la digitalización de los landmarks para la formación de siluetas con la variación estructural. Según los resultados, la región de mayor altura dorsal y ventral, son los puntos más notorios en la diferenciación del contorno corporal a nivel poblacional y entre la misma población. La variabilidad entre los individuos según el factor mencionado influye en el error de la medición de la forma (Bookstein, 1991). Esto es crucial, ya que una baja variabilidad debida al error indica que los resultados son confiables y reproducibles. La variabilidad de la forma entre las tres poblaciones estudiadas se ve reflejada concretamente en los resultados del PCA, donde el componente principal 1 (CP1) y el componente principal 2 (CP2) explican conjuntamente más del 60% de la varianza total. De acuerdo a los resultados de Zelditch *et al.* (2012), la utilidad del PCA puede discriminar patrones morfológicos, revelan diferencias significativas de los individuos entre las poblaciones estudiadas de Cucunubá, Neusa y Villa Pinzón, indicando una posible aislación geográfica o adaptaciones locales a microhábitats específicos (Adams y Collyer, 2019). Estas diferencias regionales pueden ser atribuidas a un crecimiento alométrico, como se ha observado en otros estudios (Klingenberg, 1998).

La evaluación de las gradillas de deformación revela perturbaciones marginales en la comparación entre poblaciones, particularmente en zonas anatómicas de importancia como los puntos de máxima prominencia, tanto en los aspectos ventrales como dorsales. Estas divergencias zonales posiblemente se originan en fenómenos de crecimiento alométrico, un patrón ya documentado por investigaciones previas, como la de Klingenberg (1998).

Mediante el análisis de varianza canónica (CVA), se constató una ausencia de diferenciación notable entre las poblaciones de Villa Pinzón y Neusa, contrapuesta a una diferenciación marcada en la población de Cucunubá. Estos hallazgos sugieren la existencia de un posible fenómeno de aislamiento geográfico o la presencia de adaptaciones especializadas a microhábitats determinados, tal como se discute en Adams y Collyer (2019). La variabilidad observada en la morfología corporal y las características morfológicas de la población de Cucunubá podrían ser interpretadas como consecuencia de la selección natural favoreciendo atributos particulares que proporcionan una ventaja adaptativa en ese entorno específico.

A nivel de diferenciación sexual según la morfometría lineal y merística, las estrategias de selección de habita podrían otorgar un dimorfismo sexual que no ha sido pronunciado en LT y AC, lo que indica que ambos sexos podrían estar sometidos a presiones análogas a nivel comportamental en el nicho trófico o incluso por factores ambientales que afectan por igual a ambos sexos (Darwin, 1871).

La tendencia de la variabilidad de la longitud estándar (LE) y en otras medidas morfométricas pueden ser a causa de la historia de vida de los individuos de capitán de la sabana (Bastidas y Lemus, 2014), que han modificado su estrategia reproductiva o roles ecológicos a tal punto que las hembras pueden ser más grandes para maximizar la fecundidad, mientras que los machos obtienen características de eficacia biológica con respecto a la competencia intraespecífica (Andersson, 1994).

Debido a las variaciones en la LT y AC, se podría considerar la edad como factor biológico divisor de grupos morfométricos, puesto que es un indicativo del estado reproductivo del organismo (contemplado en las distribuciones no normales). De modo que las correlaciones entre las variables lineales son positivas entre LT y LE son indicativos para diferenciar los sexos (Fairbairn *et al.*, 2007; Klingenberg, 2010).

CONCLUSIONES

La morfometría geométrica demostró ser un eje importante para estudios no invasivos en la investigación del cambio de la forma de individuos a nivel de especie específica y de diferenciación de sexos. Se comprobó uniformidad en la comparación de contornos corporales según las poblaciones y entre las mismas, demostrando que la población de Cucunubá posiblemente presente rangos estructurales diferentes y de diferenciación poblacional con respecto a Villa Pinzón y Neusa. Si existe una diferenciación sexual de los individuos entre las poblaciones, pese al alto crecimiento alométrico y posibles errores en la toma de datos.

El análisis morfométrico de las poblaciones de *Eremophilus mutisii* en Neusa, Cucunubá y Villa Pinzón reveló diferencias morfológicas significativas que podrían ser atribuidas a variaciones genéticas, presiones ambientales y adaptaciones locales. La precisión en la digitalización de los landmarks proporcionó confianza en la veracidad de los resultados. Se encontró que la variación morfológica entre individuos fue mayor que el error de medición, lo que respalda la consistencia y precisión metodológica del estudio. Además, se destacaron diferencias significativas en la morfología entre las poblaciones, con énfasis en la población de Cucunubá. Estos hallazgos son importantes para comprender la variabilidad morfológica intraespecífica y la dinámica de las poblaciones de *Eremophilus mutisii*.

RECOMENDACIONES

Para consolidar las apreciaciones de dimorfismo sexual, se sugiere el análisis de hormonas que permitan determinar el sexo y a posteriori corroborarlo mediante morfometría geométrica. Se recomienda el uso de descriptores elípticos de Fourier para el entendimiento de contornos complejos de los organismos. Se sugiere también evaluar los efectos de factores ambientales específicos sobre la morfología.

ANEXOS

Se realizaron las medidas de morfometría lineal y merística a 39 individuos pertenecientes a la población Embalse de Neusa (tabla 5, 6), donde se identificaron 21 hembras y 18 machos (tabla 7).

Tabla 5. Medidas de morfometría lineal de contorno corporal y cefálico de individuos de la población Embalse del Neusa. LT: longitud total. LE: longitud estándar. LPD: longitud pre-dorsal. LPA: longitud pre-anal. LC: longitud cabeza. APC: altura del pedúnculo caudal. AC: altura cabeza. LAP: longitud aleta pectoral. LAD: longitud aleta dorsal. LPO: longitud pre-orbital. BAD: base de la aleta dorsal. BAA: base de la aleta anal. BAP: base de la aleta pectoral. (B) Medidas morfométricas del contorno cefálico. AIO: ancho interorbital. AB: ancho boca. DO: diámetro ojo. LBM: longitud barbicelo maxilar. LBN: longitud barbicelo nasal. LBR: longitud del barbicelo rictal.

Variables (cm)	Individuos															
	AVID 6280	AVID 7703	AVID 7806	AVID 6336	AVID 7708	AVID 6140	AVID 8138	AVID 6390	AVID 7827	AVID 7722	AVID 8090	AVID 6225	AVID 6130	AVID 6230	AVID 6385	AVID 8065
LT	34,8	35,1	29,29	31,31	31,1	29,2	28,5	34,3	29,8	32,1	27,9	32,4	28,3	34,34	31,8	31,8
LE	30,3	31,4	26,4	27,27	27,6	25,1	21,1	30,4	26,2	28,8	25,2	28,7	25,7	30,2	28,1	23,1
LPD	19,8	20,5	17,4	18,2	17,4	17,3	16,3	19,8	17,1	18,1	17,5	18,6	16,1	18,4	18,1	18,5
LPA	21,8	22,1	19,9	19,6	19,8	18,9	18,18	20,6	18,9	20,6	18,9	20,4	17,9	21,8	20,2	20,9
LC	4,82	4,72	3,78	3,93	4,01	4,13	3,78	4,71	4,24	4,39	4,05	4,36	3,89	4,57	3,42	5,42
APC	4,86	4,36	3,18	3,32	3,63	3,31	2,95	4,25	3,55	3,46	3,74	3,62	4,16	4,64	4,24	4,88
AC	2,98	3,11	2,25	2,46	2,63	2,41	2,24	2,74	2,59	2,91	2,82	2,51	2,63	2,66	2,62	3,71
LAP	3,11	3,15	2,25	2,67	2,53	2,68	2,42	3,23	2,08	2,64	2,84	2,58	2,38	2,69	3,47	2,61
LAD	3,22	3,77	2,19	2,75	3,22	2,33	2,61	3,63	2,24	3,35	2,96	2,89	3,02	3,47	3,33	3,43
LPO	4,82	4,72	3,78	3,93	4,01	4,13	3,78	4,71	4,24	4,39	2,82	4,36	3,89	4,57	3,42	3,71
BAD	3,98	3,59	3,08	3,09	3,23	2,88	3,15	4,02	3,31	3,81	4,05	3,07	2,72	4,02	2,61	3,06
BAA	3,06	2,98	2,43	2,73	2,12	1,97	2,35	2,65	2,17	2,41	1,95	2,41	1,78	2,67	2,36	2,31
BAP	0,75	0,76	0,64	0,74	0,66	0,66	0,58	0,64	0,61	0,58	0,59	0,68	0,58	0,67	0,66	0,59
AIO	2,22	2,19	1,91	1,79	2,07	2,06	1,78	2,15	1,93	2,11	2,09	2,12	2,07	2,42	2,27	2,02
AB	1,77	1,68	1,53	1,51	1,47	1,55	1,17	0,29	1,29	1,12	1,41	1,48	1,48	1,61	1,56	1,46
DO	0,29	0,22	0,31	0,15	0,16	0,31	0,25	1,56	0,22	0,24	0,37	0,37	0,33	0,44	0,39	0,11
LBM	2,66	1,76	1,99	1,78	1,45	2,21	1,71	1,92	1,89	1,52	2,27	2,69	1,91	1,91	2,22	1,39
LBN	1,99	1,51	1,52	1,31	1,69	1,58	1,39	1,97	1,88	1,31	1,95	2,11	1,86	1,51	1,96	1,15

LBR	2,2	1,6 3	1,7	1,4 3	1,6 4	2	1,5 4	1,7 7	1,5 6	1,7 5	1,6	2,0 3	1,5 6	1,8 5	1,8 4	1,4 2
------------	-----	----------	-----	----------	----------	---	----------	----------	----------	----------	-----	----------	----------	----------	----------	----------

Tabla 6. Medidas de morfometría merística de individuos de la población Embalse del Neusa. RAL: radios aleta lateral. RAA: radios aleta anal. RAP: radios aleta pectoral. DPM: dientes pre-maxilares. DD: dientes del dentario. DO: dentículos operculares. DI: dentículos interoperculares.

Variables	Individuos																
	AVID 6280	AVID 7703	AVID 7806	AVID 6336	AVID 7708	AVID 6140	AVID 8138	AVID 6390	AVID 7827	AVID 7722	AVID 8000	AVID 6225	AVID 6130	AVID 6230	AVID 6385	AVID 8065	
RA L	8	8	8	7	8	7	7	9	8	7	7	8	8	8	7	9	
RA A	7	8	7	8	7	8	8	8	8	8	5	8	7	7	7	7	
RA P	9	9	8	8	9	9	7	9	9	9	7	9	9	9	8	9	
DP M	93	96	90	74	75	78	66	12 2	94	72	61	10 6	91	97	96	94	
DD	67	71	64	51	62	92	58	10 2	60	64	50	94	76	88	74	62	
DO	21	14	21	25	26	30	27	24	10	17	14	23	18	24	24	18	
DI	27	21	26	27	34	31	32	36	37	26	22	27	24	30	23	31	

Tabla 7. Sexo de los individuos de la población Embalse del Neusa. **H:** hembra. **M:** macho.

Individuos	Sexo
AVID628044	H
AVID779382	M
AVID780639	M
AVID633601	H
AVID770873	M
AVID614011	M
AVID813862	M
AVID639000	H
AVID782794	M
AVID772268	H
AVID809009	H
AVID622569	H
AVID613036	H
AVID623045	H
AVID638595	M
AVID806533	M

También se realizaron las medidas de morfometría lineal y merística a 30 individuos pertenecientes a la población Cucunubá (tabla 8, 9), donde se identificaron 16 hembras, 9 machos y 5 individuos sin determinar el sexo (tabla 10).

Tabla 8. Medidas de morfometría lineal de contorno corporal y cefálico de individuos de la población Cucunubá.

														Individuos													
LB	DO	AB	AIO	BA	BA	BA	BA	LP	LA	LA	LA	AC	AP	LC	LP	LPD	LE	LT	Variables (cm)								
1.7	0.17	1.0	1.41	0.32	1.7	1.9	2.85	1.52	1	1.51	2.3	2.8	12	11.2	17.2	19.	AVID7762										
2.0	0.25	0.9	1.51	0.39	1.62	1.8	2.74	2.68	1	1.63	2.7	2.7	12	11.4	17.5	20	AVID8028										
2.5	0.3	1.3	1.54	0.43	1.48	1.9	3.8	2.56	2	1.71	2.6	3.8	15	14.4	20.9	23.	AVID8112										
2.1	0.3	1.0	1.47	0.44	1.37	1.9	2.85	2.06	1	1.61	2.3	2.8	12	11.8	17.2	20.	AVID6128										
1.6	0.75	0.9	0.45	0.26	1.19	1.9	2.31	2.05	1	1.61	2.1	2.3	12	10.5	17.1	19.	AVID7765										
1.3	0.25	0.4	0.21	0.28	1.15	1.6	1.51	1.89	1	1.47	2.2	1.5	12	10.8	17.1	18.	AVID7831										
1.9	0.29	0.9	1.47	0.43	1.27	1.6	2.72	2.03	1	1.59	2.2	2.7	11	10.9	17.1	19.	AVID7690										
1.7	0.31	1.3	1.67	0.7	1.79	2	3.57	2.84	2	1.85	2.9	3.5	17	15.1	20.1	26.	AVID7788										
2.3	0.32	1.1	1.64	0.55	1.64	1.9	3.44	2.71	2	1.91	2.6	3.4	15	15	22.3	25	AVID7708										
1.7	0.3	1.2	1.38	0.44	1.35	1.7	2.59	2.02	1	1.53	2.0	2.5	12	11.1	16.6	18.	AVID6273										
1.8	0.28	0.9	1.44	0.48	1.19	1.5	2.82	1.87	1	1.52	2.2	2.8	12	11.1	17.3	19.	AVID7978										
1.7	0.28	0.9	1.38	0.4	1.31	1.8	2.87	2.45	2	1.54	2.2	2.8	12	11.5	17.8	19.	AVID7707										
1.5	0.31	1.0	1.42	0.46	1.37	1.6	2.6	2.01	1	1.58	2.3	2.6	12	11.8	18.3	20.	AVID7705										
1.7	0.22	0.9	1.34	0.47	1.1	1.3	2.58	1.97	1	1.36	2.1	2.5	10	10	14.9	17.	AVID7840										
2.1	0.31	1.2	1.46	0.52	1.55	2.0	3.11	2.28	1	1.56	2.4	3.1	11	11.1	16.4	18.	AVID6273										
2.2	0.21	1.1	1.56	0.31	1.97	2.2	3.11	2.18	2	1.97	2.9	3.1	14	12.8	19.6	21.	AVID7840										
1.9	0.21	0.9	1.35	0.42	1.56	1.9	3.01	2.18	2	1.66	2.5	3.0	11	10.9	18.4	21.	AVID7708										
1.9	0.21	1.1	1.56	0.52	1.87	1.9	3.12	2.39	1	1.87	2.8	3.1	12	11.8	18.2	20.	AVID6368										
2.0	0.24	1.3	1.47	0.45	2.71	2.1	3.09	2.44	2	1.73	3.0	3.0	14	12.9	19.5	22	AVID6326										
1.3	0.31	1.3	1.56	0.52	1.56	1.9	2.92	2.5	2	1.87	2.7	2.9	14	10.3	19.8	22.	AVID7786										
2.5	0.32	1.7	1.87	0.53	1.98	2.7	3.67	2.6	2	2.02	3.0	3.6	15	14.1	22.5	25.	AVID6167										
1.9	0.21	1.1	1.56	0.62	1.46	1.7	2.91	1.77	2	1.77	2.4	2.9	12	11.8	18.3	20.	AVID7758										
2.3	0.31	1.3	1.77	0.52	1.78	1.9	3.43	2.39	2	1.77	3	3.4	15	14.3	22.3	24.	AVID7988										
2.2	0.31	1.1	1.45	0.52	1.66	1.6	2.92	2.08	1	1.77	2.8	2.9	12	11.6	17.2	19.	AVID8070										
2.3	0.31	0.9	1.46	0.32	1.35	1.6	2.81	1.77	1	1.66	2.7	2.8	11	10.9	16.4	18.	AVID7980										
1.7	0.2	1.0	1.35	0.39	1.53	1.7	2.61	1.99	1	1.51	2.2	2.6	11	10.7	16.3	18.	AVID7742										
2.0	0.28	1.0	1.45	0.43	1.55	2.0	3.01	2.09	1	1.78	2.3	3.0	12	12	17.4	20.	AVID7800										
2	0.28	1.2	1.54	0.52	1.5	1.8	2.92	1.17	1	1.67	2.6	2.9	12	11.9	17.8	20.	AVID8435										

LB	LB
2.11	1.68
1.83	1.53
1.79	1.75
2.11	1.54
2.01	1.26
1.23	1.05
1.55	1.5
1.38	1.77
2.2	1.68
1.27	1.22
1.63	1.11
1.54	1.37
1.93	1.57
1.84	1.34
2.18	1.45
2.07	2
1.87	2.07
1.77	1.66
1.85	1.61
1.97	1.87
2.18	2.08
1.66	1.77
2.39	1.67
2.08	1.48
1.56	2.29
1.27	1.22
1.88	1.53
1.78	1.81

Tabla 9. Medidas de morfometría merística de individuos de la población Cucunubá.

V a r i a b i l e s	Individuos																							
	A V I D 7 7 6 2 8 8 0 5	A V I D 8 0 8	A V I D 7 6 1 7 8	A V I D 7 7 8																				
F A L T A	7	8	8	7	8	7	7	7	7	7	7	7	8	8	8	7	7	8	8	8	8	8	8	7
F A L T A	7	7	6	5	8	8	7	8	7	7	8	7	7	7	8	8	7	7	7	8	7	8	8	7
F A L T A	8	9	0	7	9	8	9	8	8	8	9	9	0	9	9	9	9	8	9	8	9	9	8	8
D E F E C T O	9	9	0	8	8	8	9	1	0	7	0	9	9	7	8	7	7	9	9	8	9	8	0	1
D E F E C T O	5	8	8	6	6	7	6	6	7	5	6	6	8	6	6	6	7	8	8	6	6	6	7	9
D E F E C T O	1	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2
C O N D I C I O N	6	3	7	3	5	3	6	6	8	6	4	4	1	7	6	2	8	1	6	2	4	9	4	0
D E F E C T O	2	2	2	3	2	3	2	4	2	3	2	2	3	3	3	3	2	3	3	2	3	2	3	3
I N D E T E R M I N A D O	2	9	4	3	6	0	9	4	7	5	8	8	5	3	2	0	7	4	4	7	0	4	0	2

Tabla 10. Sexo de los individuos de la población Cucunubá. **H:** hembra. **M:** macho. **NR:** indeterminado.

Individuos	Sexo
AVID776280	NR
AVID802805	NR
AVID811289	NR
AVID612875	M
AVID776576	H
AVID783102	H
AVID769074	M
AVID778828	NR

AVID770803	H
AVID627335	M
AVID797850	M
AVID770770	H
AVID770585	M
AVID784036	M
AVID627309	M
AVID784026	H
AVID770886	H
AVID636815	M
AVID632615	H
AVID778610	H
AVID616769	H
AVID775851	H
AVID798831	H
AVID807046	H
AVID798004	H
AVID774272	M
AVID780068	H
AVID843555	NR

Se realizaron las medidas de morfometría lineal y merísticas de 16 individuos pertenecientes a la población de Villa Pinzón (tabla 11, 12), donde se identificaron 3 machos, 12 hembras y 1 individuo sin sexar (tabla 13).

Tabla 11. Medidas de morfometría lineal de contorno corporal y cefálico de individuos de la población Villa Pinzón.

Variables (cm)	Individuos															
	VP1	VP2	VP3	VP4	VP5	VP6	VP7	VP8	VP9	VP10	VP11	VP12	VP13	VP14	VP15	VP16
LT	26,1	33,1	28	17,1	26,8	28,2	24,1	31,1	22,1	27,8	23,6	26,3	26,8	32,6	28	27,3
LE	22,8	28,8	24,9	15	22,8	24,2	21,8	27,5	19,8	23,4	20,9	23,1	24,4	28,6	24,9	24,1
LPD	15,2	18,3	15,9	10,1	15,1	16,1	13,8	17,4	12,5	15,9	13,7	14,8	15,3	18,9	15,8	15,3
LPA	16,4	20,8	16,7	11,1	16,3	17,8	15,3	18,8	13,9	17,8	15,1	16,3	16,9	20,1	17	16,9
LC	3,76	4,11	3,71	2,35	3,74	4	3,54	4,1	2,94	4,16	3,4	3,9	3,54	4,25	4,04	3,58
APC	3,49	5,1	3,67	2,11	3,33	3,54	3,64	3,52	2,52	3,43	3,07	3,09	2,94	4,08	3,74	2,93
AC	2,53	3,05	2,59	1,57	2,39	2,71	2,39	2,68	1,99	2,69	2,08	2,17	2,6	2,7	2,13	1,98
LAP	2,21	3,15	2,75	1,46	2,18	2,92	2,4	2,98	2,28	2,17	2,04	2,28	2,13	3,76	3,16	2,55
LAD	2,48	2,98	3,11	1,32	2,81	2,81	3,02	2,91	2,39	2,17	2,72	3,05	2,55	3,52	3,08	3,36
LPO	3,76	4,11	3,71	2,35	3,74	4	3,54	2,75	2,94	4,16	3,4	3,9	3,54	4,25	4,04	3,58
BAD	2,52	3,36	2,59	1,71	2,71	3,02	2,6	2,99	2,3	2,54	2,3	2,34	3,1	2,91	2,95	2,77
BAA	1,99	2,9	2,39	0,96	2,49	2,81	1,97	2,44	1,79	2,1	2,02	1,98	2,03	2,32	2,08	2,25
BAP	0,53	0,64	0,63	0,97	0,83	0,73	0,83	0,7	0,46	0,65	0,56	0,66	0,61	0,85	0,58	0,58
AIO	1,76	2,3	1,83	0,97	1,98	1,87	1,77	2,17	1,51	1,75	1,64	1,91	1,73	1,92	1,87	1,65
AB	1,24	1,74	1,34	1,19	1,46	1,56	1,35	1,45	1,15	1,51	1,11	1,34	1,3	1,45	1,33	1,26
DO	0,14	0,29	0,31	0,21	0,31	0,31	0,31	0,23	0,27	0,31	0,31	0,36	0,26	0,32	0,29	0,3
IBM	1,81	2,33	1,95	1,66	2,19	1,98	2,39	2,57	2,28	2,29	1,95	2,12	1,89	2,74	1,92	2,24
LBN	1,33	2,25	1,73	1,35	2,18	2,19	1,77	2,27	1,91	1,88	1,71	1,7	1,65	2,21	2,4	2,1
LBR	1,92	1,91	1,59	1,56	1,87	2,08	2,09	2,15	1,99	2,01	1,83	1,73	1,85	2,22	2,12	1,8

Tabla 12. Medidas de morfometría merística de individuos de la población Villa Pinzón.

Variables		RAL	RAA	RAP	DPM	DD	DO	DI
Individuos	VP1	8	7	8	88	78	21	26
	VP2	8	9	6	89	69	30	33
	VP3	8	7	8	78	72	21	30
	VP4	7	6	8	85	66	20	19
	VP5	8	8	8	77	60	20	36
	VP6	8	8	7	89	63	21	28
	VP7	8	7	7	81	60	22	34
	VP8	7	7	8	76	62	25	34
	VP9	7	7	9	99	89	21	30
	VP10	8	7	8	85	80	25	31
	VP11	7	6	8	87	62	21	25
	VP12	8	7	7	83	80	26	50
	VP13	7	7	9	106	78	24	31
	VP14	7	6	8	74	66	18	37
	VP15	8	7	9	96	88	24	36
	VP16	8	8	9	74	64	23	29

Tabla 13. Sexo de los individuos de la población Villa Pinzón. **H:** hembra. **M:** macho. **NR:** indeterminado.

Individuos	Sexo
VP1	H
VP2	H
VP3	M
VP4	H
VP5	RA
VP6	H
VP7	M
VP8	H
VP9	M
VP10	H
VP11	H
VP12	H
VP13	H
VP14	H
VP15	H
VP16	H

Tabla 14. Variables biogeoquímicas de los sitios de muestreo.

Parámetro	M1/NEUSA			M4/Villapinzon			M5/Cucunubá		
	M1:1	M1:2	M4:1	M4:2	M5:1	M5:2			
	mg/L								
Alcalinidad	1	9	15	11	11	10			
Dureza de Calcio	7,45	6,95	2,26	2,38	2,57	2,39			
Amoniaco Rango Medio	0	0	1,15	1,16	1,19	1,18			
Hierro Rango Bajo	0,348	0,285	1,44	1,41	1,34	1,25			
nitritos Rango Alto	ND	ND	ND	ND	ND	ND			
nitratos	ND	ND	0	0	0,2	0,2			
Dureza de magnesio	19	15,8	0,94	1,03	1,02	1,02			
Hierro Rango Alto	0,3	0,22	1,74	1,68	1,74	1,65			
Potasio	2,2	1,8	1,8	1,5	1,74	1,65			
Fosfatos Rango Bajo	0,025	0,005	0,36	0,32	0,36	0,38			
Fosfato Rango Alto	1	2,7	1,5	1,2	1,6	1,9			
NOTA	ND: No Detectable porque la muestra no esta dentro de los rangos de medida Los valores reportados como cero no tiene iones del parametro								

BIBLIOGRAFÍA

Adams, D. C., Rohlf, F. J., & Slice, D. E. (2004). Geometric morphometrics: ten years

of progress following the 'revolution'. *Italian journal of zoology*, 71(1), 5-16.

Adams, D. C., & Collyer, M. L. (2019). A general framework for the analysis of phenotypic trajectories in evolutionary studies. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 73(3), 000-000.

Andersson, M. (1994). *Sexual Selection*. Princeton University Press.

Bastidas, J., & Lemus, C. (2014). Aporte al conocimiento de la biología y ecología del pez capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*) Humboldt 1805 (Pisces: Trichomycteridae) en el altiplano cundiboyacense. *Bogotá: Corporación Universitaria de Ciencia y Desarrollo–Uniciencia*, 82p.

Boada-Cuevas, P. A. (2011). Caracterización climatológica de la cuenca alta del Río Bogotá.

Bookstein, F. L. (1991). *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge University Press.

Bookstein, F. L. (1997). *Morphometric tools for landmark data* (p. 455).

Casale, P., Freggi, D., Rigoli, A., Ciccocioppo, A., & Luschi, P. (2017). Geometric morphometrics, scute patterns and biometrics of loggerhead turtles (*Caretta caretta*) in the central Mediterranean. *Amphibia-Reptilia*, 38(2), 145-156.

Committee on Care and Use of Laboratory Animal Resources. (1996). National Research Council, USA.

Darwin, C. (1871). *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex*. John Murray.

Fairbairn, D. J., Blanckenhorn, W. U., & Székely, T. (Eds.). (2007). *Sex, Size and Gender Roles: Evolutionary Studies of Sexual Size Dimorphism*. Oxford University Press.

Fruciano, C. (2016). Measurement error in geometric morphometrics. *Development genes and evolution*, 226, 139-158.

Guisande-González, C.; Vaamonde-Liste, A. & Barreiro-Felpeto, A. (2013). Tratamiento de datos con R, Statística y SPSS. *Ed. Díaz de Santos* ISBN: 978-84-9969-612-6 (Libro electrónico).

Guerrero-Arenas, R.; Zúñiga-Marroquín, T. & Jiménez-Hidalgo, E. (2018). How much variation is in the shape of fossil pupation chambers? An exploratory geometric morphometric analysis of *Fictovichnus gobiensis* from the Late Eocene of Oaxaca, southern México. *Bol. Soc. Geol. Mex.*, 70 (2): 361 - 368.

Kendall, D. G. (1977). The diffusion of shape. *Advances in applied probability*, 9(3), 428-430.

- Klingenberg, C. P. (1998). Heterochrony and allometry: The analysis of evolutionary change in ontogeny. *Biological Reviews*, 73(1), 79-123.
- Klingenberg, C. P. (2010). Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches. *Nature Reviews Genetics*, 11(9), 623-635.
- Klingenberg, C. P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular ecology resources*, 11, 2: 353-357.
- Lasso, Carlos A., & Provenzano, F. (2002). Dos nuevas especies de bagres del género *Trichomycterus* (Siluriformes: Trichomycteridae) de la Gran Sabana, Escudo de las Guayanas, Venezuela. *Revista de Biología Tropical*, 50(3-4), 1139-1149. Recuperado en 08 de agosto de 2019, de http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003477442002000300031&lng=es&tlng=es
- Landines, M. A., Prieto, C. A., Rodríguez, L., & Rosado, R. (2017). Perfil de esteroides sexuales del capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*) durante un ciclo hidrológico completo. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 20(1), 43-50.
- Lestrel, P. E. (2000). *Morphometrics for the life sciences* (Vol. 7). World Scientific Publishing Company.
- López, G. A. (2015). Morfometría geométrica: el estudio de la forma y su aplicación en biología. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 19: 55, 53-59.
- Mayr, E; Ashlock, P. (1991). *Principles of systematic zoology*. McGraw-Hill, 475 p.
- Mendoza, M.B.; Oyakawa, O.T. & Wosiacki, W.B. (2018). A new species of *Ituglanis* Costa & Bockmann, 1993 (Siluriformes: Trichomycteridae) from Rio Ribeira de Iguape and upper Rio Tietê basins, southeastern Brazil. *Zootaxa* 4504 (4): 473–488.
- Moreno, J. M., Aguilar, F. A., Boada, N. S., Rojas, J. A., & Prieto, C. (2019). Análisis morfométrico e índices corporales del capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*). *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 66(2), 1-13.
- Rohlf, F. J. (2015). The tps series of software. *Hystrix*, 26, 1: 9
- Slice, D. E. (2007). Geometric morphometrics. *Annu. Rev. Anthropol.*, 36, 261-281.
- Valdivia, A. B., Lara, R. F., Espinoza, C. B., Pomahuacre, S. Q., Ramos, G. R., Seabra, A., ... & Maia, J. (2008). Prontitud coordinativa: perfiles multivariados en función de la edad, sexo y estatus socio-económico. *Rev Port Cien Desp*, 8(1), 34-46.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D., & Fink, W. L. (2012). *Geometric morphometrics for biologists: a primer*. Elsevier.



OBJETIVO GENERAL. Aunar esfuerzos para fortalecer el estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento de ejemplares adultos en cautiverio, con fines de conservación del capitán de la sabana *Eremophilus mutisii*, Humboldt, 1805.

OBJETIVO ESPECIFICO 2. Evaluar la morfología de poblaciones obtenidos en campo, estado nutricional y sanitario en cautiverio del Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisii*)

ACTIVIDAD 2.2 Análisis del crecimiento, manejo alimentario y nutricional de los peces en cautiverio

PRODUCTO 2.2.1. Un informe técnico con el análisis de la información del crecimiento (peso, longitud, tasa específica de crecimiento y factor de condición) y su relación con el manejo nutricional de los peces mantenidos en cautiverio.

Ponderación Producto: 5%

Avance: 5%

DICIEMBRE 2023

RESPONSABLE

Camilo Alberto Prieto Mojica

ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO, MANEJO ALIMENTARIO Y NUTRICIONAL DE LOS PECES EN CAUTIVERIO

INTRODUCCIÓN

El capitán de la sabana, *Eremophilus mutisii* (Siluriformes: Trichomyteridae) es la especie íctica representativa y emblemática del río Bogotá y sus afluentes y desde tiempos ancestrales ha sido importante en la región del altiplano cundiboyacense (Maldonado et al. 2008), formando parte habitual de la dieta de los pobladores de la región, incluso, desde tiempos pasados, cuando comunidades indígenas nativas habitaban la zona; sin embargo, el actual deterioro de los ecosistemas, fundamentalmente por acción antrópica, ha diezmado sus poblaciones (Salcedo et al. 2012), al punto de pasar en la clasificación de la UICN de categoría “Casi Amenazada”, en el 2002 (Mojica et al. 2002), a “Vulnerable”, en el 2012 (Mojica et al. 2012). Este hecho exige un trabajo de conservación de la especie y de su hábitat que, eventualmente, permita su recuperación. Por otro lado, ha sido catalogada por varios autores como, probablemente, la única especie nativa de aguas frías, con posibilidad de ser utilizada para piscicultura (Rosado & González, 2007).

Teniendo en cuenta la importancia de la especie en las zonas alto andinas, el MADS y posteriormente la CAR conjuntamente con universidades, organizaciones privadas y gubernamentales recopilan la información biológica, ecológica y de distribución conocida de la especie y crean el “Programa nacional y regional para la conservación de la especie endémica de Colombia, Pez capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*)” con cinco líneas de acción que enmarcan actividades encaminadas hacia la gestión integral de la especie a mediano y largo plazo (MADS, 2017; CAR, 2018). A pesar de que en este plan se recopila gran parte de la información biológica y ecológica del capitán de la sabana; aún existen vacíos de información básica que son fundamentales para plantear estrategias efectivas para el manejo y conservación de la especie.

En este sentido, este informe busca fortalecer la generación de nuevo conocimiento a través de brindar información sobre el manejo y adaptación de animales adultos a condiciones de cautiverio de forma que se pueda contribuir con información científica más eficaz a los programas de producción en cautiverio y de conservación de la especie.

METODOLOGIA

Se recolectaron 57 peces que fueron distribuidos en 6 tanques plásticos circulares con capacidad de 250 litros cada uno.

Estos peces fueron extraídos en el Municipio de Suesca – Cundinamarca, los cuales fueron transportados a la granja Truchas de la Sierra en Guasca - Cundinamarca, en donde se llevó a cabo el seguimiento al crecimiento, manejo alimentario y nutricional de estos peces.

Para el manejo de estos peces se dispuso de una batería compuesta por seis tanques circulares plásticos, referencia bajitos 250 L, cada uno con su correspondiente cubierta.

Cada unidad se adecuó para que tenga entrada y salida de agua independientes, con un flujo controlado, que podrá ser máximo de 0,5 litros segundo⁻¹.

En cada unidad fueron ubicados un total máximo de 10 ejemplares.

En el momento del ingreso los ejemplares fueron revisados individualmente y se tomaron datos de longitud total (cm) y peso (g). Con base en la longitud total, fueron separados en dos grupos: mayores y menores de 24 cm y fueron utilizados como fuentes de variación.

A continuación se muestran algunas imágenes del proceso de transporte y llegada a la granja Truchas de la Sierra



Figura 1. Llegada de los peces a la granja. Tanques preparados con macrofitas que sirve de protección de rayos solares.



Figura 2. Transporte, acondicionamiento y liberación de animales en los tanques de plástico.

ALIMENTO

Fase 1

Inicialmente se formuló una dieta utilizando el programa Super Crack 6.1, la cual fue probada por una semana pero se observó baja palatabilidad de esta dieta.

Alimentos	Quantidade
FRANGO PEITO COZIDO	28,0000
FRANGO CORACAO COZIDO	27,8795
Otohime	20,0000
GELATINA SIN SABOR	12,0000
OLEO DE SOJA	3,5191
FRANGO MOELA COZIDO	3,1014
FRANGO FIGADO COZIDO	2,0000
VITINPEIXES AL/REP.	2,0000
BOVINO BUCHO COZIDO	1,0000
OLEO DE PEIXE	0,5000
Total :	100,0000

Debido a la baja palatabilidad de la dieta formulada inicialmente se realizaron dos nuevas pruebas de palatabilidad. En la primera fueron formuladas y ofrecidas cuatro opciones, preparadas en el Laboratorio de Nutrición Animal de la universidad, así

1. Corazón de pollo previamente cocido
2. Corazón de pollo crudo
3. Integrado de lombriz y corazón de pollo
4. Corazón de pollo molido

En finca, las presentaciones se sometieron a un secado de 12 horas, formando al final un pellet de 3 mm de diámetro. Al evaluar el consumo de estas 4 dietas no se observó consumo.

En la segunda prueba de palatabilidad, se prepararon 2 tipos de alimento:

1. Hidrolizado de hígado de pollo mezclado con papilla de corazón (100%)
2. Hidrolizado de hígado de pollo mezclado con papilla de corazón (50%) y papilla de hígado (50%)

En este caso, el trabajo en finca se enfocó en formar pellets de 3 mm de diámetro, para ser ofrecido a los peces. Al evaluar el consumo de las dietas se comprobó la ingesta de los granos de alimento en las dos dietas.

Una vez verificada la palatabilidad de las dietas , se procedió a la elaboración del alimento, el cual se ha realizado en el Laboratorio de Nutrición Animal de la U.D.C.A. como se muestra en la secuencia.



Se determinó la composición calculada de cada una de las dietas:

Ingrediente	Dieta 1	Dieta 2
Hidrolizado (%)	50	50
Corazón pollo (%)	50	25
Hígado de pollo (%)	0	25
Total (%)	100	100
Composición calculada		
Ácido araquidónico (%)	0,042	0,053
Ácido linoleico (%)	0,706	0,448
Ácido linolénico (%)	0,019	0,012
Extracto etéreo (%)	12,798	10,647
Fibra bruta (%)	0,000	0,000
Materia mineral (%)	0,673	0,636
Materia orgánica (%)	0,000	0,000
Proteína bruta (%)	36,220	35,007

RESULTADOS

Ingreso y manejo de ejemplares

La captura y traslado de los peces se realizó de forma paulatina durante un periodo de 30 días, hasta completar 57 ejemplares (30 hembras, 27 machos). En el momento del ingreso fueron medidos en longitud y peso; también se determinó el sexo, con la emisión de huevos o esperma, mediante presión abdominal. Como procedimiento estándar, todos los peces fueron sometidos a un periodo de cuarentena en acuarios de 50 litros, a los que se adicionó sal común, en una concentración del 0,1% (1 gramo por litro), el desinfectante Virkon (5 mg l⁻¹) y un promotor de la producción de moco (Mucosol, 0,1 gramos por litro); en estos acuarios, de acuerdo al estado de los peces, permanecieron entre 3 y 8 días.

Durante este tiempo, el agua en cada acuario fue renovada en un 90% cada tercer día.

El registro completo de tallas de los ejemplares, incluyendo la definición del sexo y su ubicación, se presenta en la tabla siguiente.

Tabla 1. Ubicación y datos de talla y sexo de los individuos en el día del inicio del seguimiento

No.	ESTANQUE 1			ESTANQUE 2			ESTANQUE 3			ESTANQUE 4			ESTANQUE 5			ESTANQUE 6		
	LT	W	SEXO	LT	W	SEXO	LT	W	SEXO	LT	W	SEXO	LT	W	SEXO	LT	W	SEXO
1	21,6	77	M	24,7	124	H	24,2	103	H	23,5	117	H	23,5	122	M	30,2	245	H
2	21,2	86	H	24,2	103	H	32	312	M	22,2	89	H	16,6	40	M	30,6	277	M
3	21,3	73	M	35	455	H	26,4	161	H	22	71	M	24	119	H	33,8	238	M
4	21,9	91	M	28,1	236	H	25,3	155	M	20	58	M	20,7	81	H	25,1	137	H
5	20,5	63	M	25,5	199	H	34	392	H	24	113	H	22,8	93	M	27,5	193	M
6	16,9	39	M	25,3	136	H	26,9	185	M	22,8	110	M	21,2	69	H	26,5	172	M
7	18,9	52	M	28,2	210	H	27,9	265	M	24	114	M	20,3	56	M	26,4	164	M
8	21,3	70	M	30,8	260	M	26,4	161	H	24	113	H	20,9	82	M	28,7	240	H
9	23,9	120	H	32,5	302	H	28	218	H	22,3	96	H	21,5	78	H	26,5	178	H
10				28,5	260	H	28,5	173	M							26,5	170	H
PROMEDIO	20,8	74,6		28,3	228,5		28,0	212,5		22,8	97,9		21,3	82,2		28,2	201,4	
DESV EST	2,0	23,5		3,6	102,8		3,0	86,8		1,3	21,3		2,2	26,7		2,7	45,3	
C.V. (%)	9,5	31,5		12,7	45,0		10,7	40,9		5,8	21,7		10,2	32,5		9,4	22,5	

Después de 15 días de permanencia en los tanques, se procedió a realizar las mediciones de seguimiento del crecimiento; en tanto la cantidad de peces no fue elevada, la medición se efectuó sobre el total presente en cada unidad, lo que permitió también, realizar una valoración externa de la condición general.

Las actividades de captura, traslado, mediciones y cuarentena implicaron labores de fuerte manipulación, lo que generó pérdidas iniciales constantes que, conforme pasó el tiempo, tendieron a estabilizarse. Por tanto, para efectos de cuantificación de la supervivencia, se consideró la cantidad presente en el día del segundo muestreo (día 15). El total de ejemplares en ese momento fue de 45, con 24 hembras y 21 machos.

Para evaluar crecimiento, además de la medición inicial (Tabla 1) se realizaron tres muestreos adicionales hasta finalizar el seguimiento, con lo que se dispone de un total de 4 datos para todo el periodo. Los promedios obtenidos para el total de los ejemplares se presentan en las tablas 2 y 3.

Tabla 2. Registros de cantidad de ejemplares, longitud total (cm), peso (g), coeficientes de variación (en longitud y peso; %) y Factor de Condición (K) para las hembras durante el periodo de seguimiento

DIA	CANTIDAD	LONG. TOTAL	PESO	CV (L Total)	CV (Peso)	K
1	30	25,88	170,37	14,11	54,42	0,982
15	24	26,60	183,79	14,08	48,25	0,976
28	14	26,67	189,36	16,22	64,33	0,998
38	13	27,13	176,17	14,46	56,63	0,882

Tabla 3. Registros de cantidad de ejemplares, longitud total (cm), peso (g), coeficientes de variación (en longitud y peso; %) y Factor de Condición (K) para los machos durante el periodo de seguimiento

DIA	CANTIDAD	LONG. TOTAL	PESO	CV (L Total)	CV (Peso)	K
1	27	24,13	133,52	18,78	60,60	0,950
15	21	24,99	144,10	17,60	53,97	0,924
28	17	25,85	154,46	17,70	51,20	0,894
38	14	25,49	148,30	20,90	63,33	0,895

En las figuras siguientes se presenta gráficamente la variación en los promedios a través del tiempo.

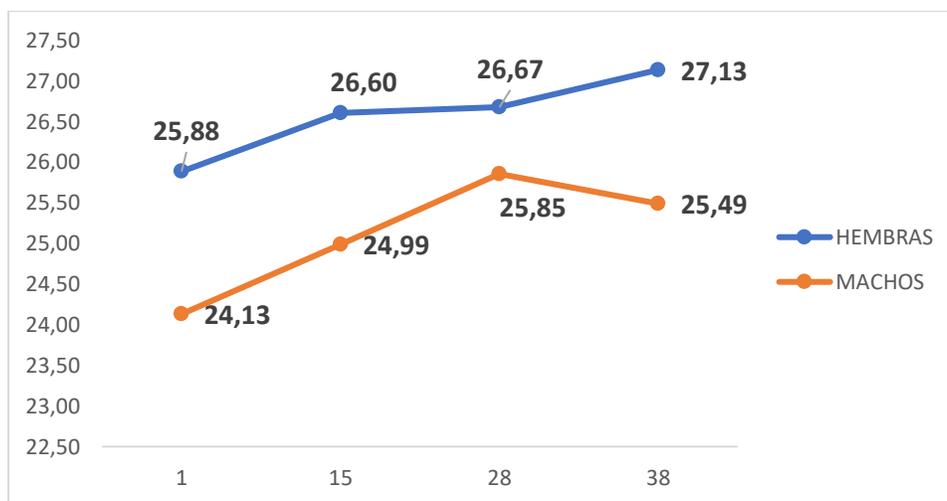


Figura 3. Variación en el promedio de la longitud total (cm) de los ejemplares durante el seguimiento

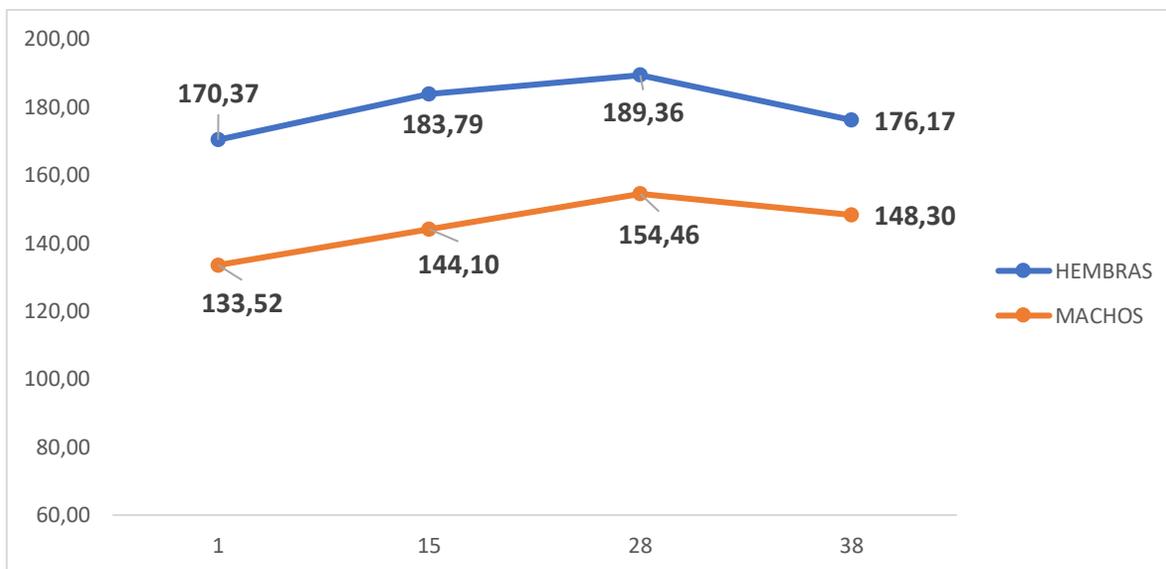


Figura 4. Variación en el promedio del peso (g) de los ejemplares durante el seguimiento

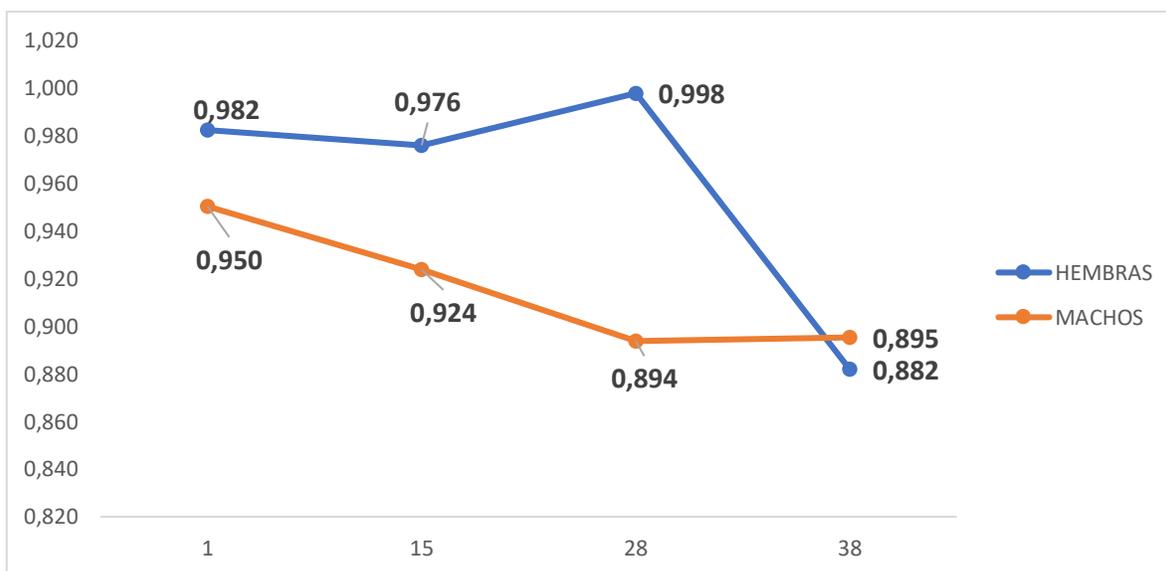


Figura 5. Variación en el promedio del Factor de Condición (K) de los ejemplares durante el seguimiento

ANÁLISIS DE RESULTADOS.

A la luz de estos resultados, se puede decir que en cuanto a la supervivencia, tomando como referente inicial el número de ejemplares presentes en el día 15 (45 en total; con 24 hembras y 21 machos), en las hembras alcanzó el 54,2% (13 ejemplares) y en machos el 66,7% (14 ejemplares).

Analizando el tamaño de los animales, no se observó una asociación entre la supervivencia y la talla, establecida en ejemplares con longitud superior e inferior a los 24 cm. No obstante, una relación de este tipo no puede ser descartada, en cuanto factores externos como el tiempo entre la captura y traslado, el manejo post captura y el tipo de anzuelo empleado pueden estar influyendo en la respuesta individual y, por tanto, en las posibilidades de supervivencia.

En cuanto al Factor de Condición, se observa que se presentó una reducción constante en el tiempo; es decir que, en media, hay una disminución progresiva en el peso de los peces, lo que es una respuesta previsible. Sin comprobación estadística, esta pérdida de condición fue mayor en el caso de las hembras.

En términos generales, el mejor acercamiento al comportamiento de la talla en el tiempo es que se mantuvo en los mismos promedios del momento de captura. La baja cantidad de individuos y el elevado coeficiente de variación, tanto en longitud como en peso, indican que el efecto de los peces perdidos por mortalidad sobre los promedios es relevante y, con los datos disponibles, no permite establecer conclusiones.

En cuanto a los procedimientos de cuarentena mostraron ser efectivos, aun cuando no son específicos para el tratamiento de una patología definida. Aparentemente, las lesiones iniciales ocasionadas por la captura, traslado y manejo logran ser controladas con los productos utilizados; no obstante, se observa la aparición de nuevas lesiones conforme transcurre el tiempo lo que, para algunos casos, obliga a la repetición de los tratamientos.

Por la respuesta observada, los tratamientos iniciales son un mecanismo válido para el manejo inicial de los ejemplares; esto permite controlar afecciones causadas por actividades de captura y traslado. No obstante, es un procedimiento de corto plazo y para el control efectivo de patologías en el capitán requiere adelantar una línea experimental específica.

Debe considerarse que en las pruebas de alimentación, la aceptación comprobada del concentrado se dio con las dos últimas formulaciones evaluadas, con el consumo evidente para el periodo entre el tercer y cuarto registro de mediciones, es decir los últimos 10 días de seguimiento; en ese sentido, para el periodo experimental tomado en conjunto, no es posible inferir sobre el efecto que tuvieron estas formulaciones en el crecimiento. En primera instancia, solo es posible concluir que la ingesta certificada de estas referencias abre una opción válida para la línea de nutrición de la especie en cautiverio.

RECOMENDACION

Con la respuesta general de los peces en las unidades de manejo se establece que se trata de infraestructura que permite sostener ejemplares en condiciones de

cautiverio. El uso de vegetación flotante y elementos que faciliten el refugio de los peces son mecanismos eficientes para los tanques de mantenimiento.



OBJETIVO GENERAL. Aunar esfuerzos para fortalecer el estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento de ejemplares adultos en cautiverio, con fines de conservación del capitán de la sabana *Eremophilus mutisii*, Humboldt, 1805.

OBJETIVO ESPECIFICO 2. Evaluar la morfología de poblaciones obtenidos en campo, estado nutricional y sanitario en cautiverio del Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisii*)

ACTIVIDAD 2.3 Análisis de las condiciones sanitarias en las unidades experimentales de los peces en cautiverio

PRODUCTO 2.3.1. Un informe técnico con el análisis de la relación de agentes patológicos encontrados en los individuos de los peces mantenidos en cautiverio.

Ponderación Producto: 10 %

Avance: 10 %

DICIEMBRE 2023

RESPONSABLE

Camilo Alberto Prieto Mojica

Informe sobre las lesiones histopatológicas del pez Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisii*) en estanques.

Como se describió en informes anteriores, los animales que presentaron signos de enfermedad y evolucionaron negativamente fueron insensibilizados con una solución de eugenol a una concentración de 2 gotas por litro de agua (20 gotas por cada 10 litros) y posteriormente fueron sacrificados por corte en de la primera articulación cervical con un bisturí. Seguido a esto, se procedió con la técnica de necropsia como se describe en peces Morales et al., (2018), se examinaron todas las vísceras macroscópicamente y se colectaron en formaldehído al 10% para su fijación y posterior procesamiento por la técnica de hematoxilina y eosina (H&E). Además, se procederá a describir los cambios patológicos encontrados en las vísceras que presenten lesiones microscópicas.

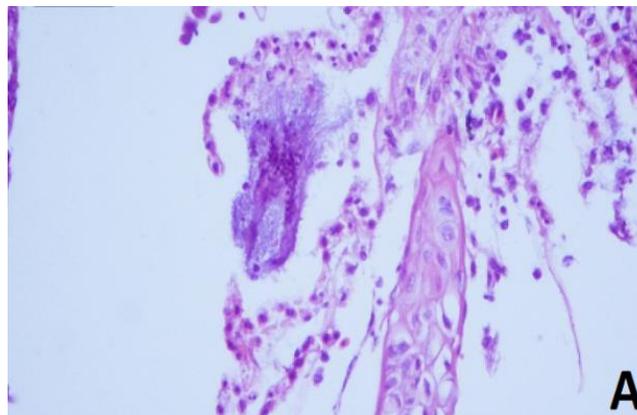
Resultados de los análisis microscópicos

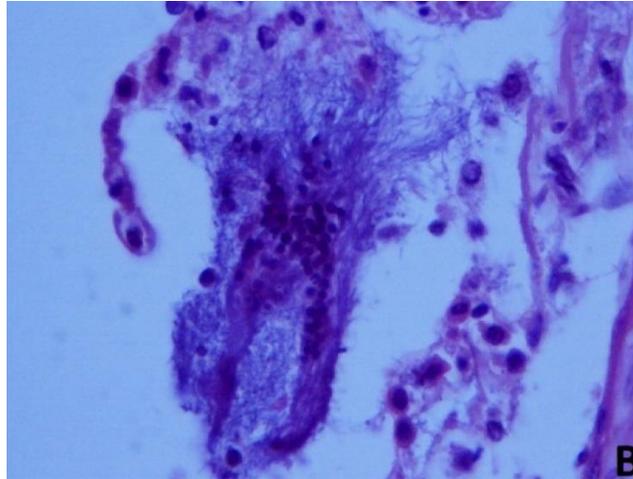
El análisis histopatológico fue realizado en animales que presentaron signos marcados de enfermedad como Inapetencia, depresión, natación errática o lesiones en piel, observándose que en los órganos: encéfalo y medula espinal no se encontraron lesiones, mientras que el tejido branquial, hígado, piel, bazo, riñón, corazón, intestino se encontraron cambios patológicos de los órganos evaluados.

En el tejido branquial en la imagen 1.A (40x) se observó colonización de bacterias filamentosas (laminillas primarias y secundarias), además degeneración hidrópica con atrofia de las laminillas secundarias hasta desaparecer (Necrosis), erosión y células inflamatorias en el centro de colonización bacteriana (imagen 1.B (100x) observándose una zona de colonización bacteriana branquial, lo cual es compatible con *Aeromonas*.

En la imagen 2.C observamos un corte de piel con parásitos sésiles subcutáneos los cuales pueden ser compatibles con Metacestodo o *Echinococcus* (10x). Por otro lado, se observó infiltración linfocítica de la epidermis (imagen 2.D - 40x). Algunas de las lesiones evolucionaron en erosiones cutáneas o úlceras profundas que pueden ser causadas por géneros de bacterias como *Flavobacterium* spp.

Figura 1. Cambios microscópicos en tejido branquial de pez Capitán de la Sabana (Imagen en 40x y 100x).





Además, en algunos animales se observó la presencia miositis necrótico/hemorrágica abscedativa generalizada (Imagen E, 40x). Además de pericarditis necrótica generalizada (Imagen F, 40). Estas lesiones posiblemente están asociadas a la sepsis causada por las *Aeromonas*.

Figura 2. Cambios microscópicos en tejido Cutaneode pez Capitán de la Sabana (Imágenes en 10x y 40x).

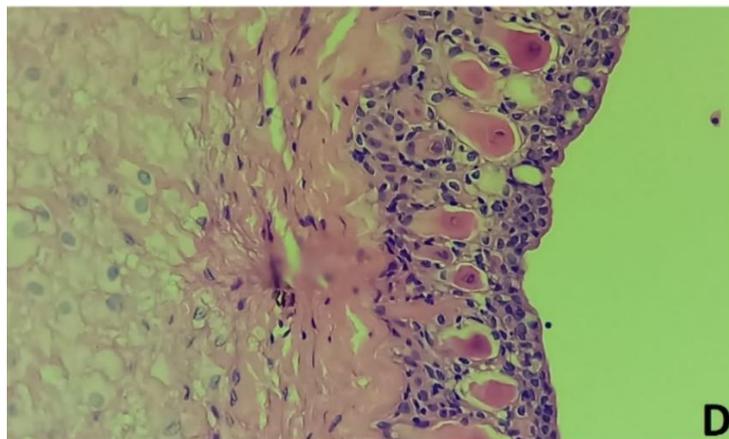
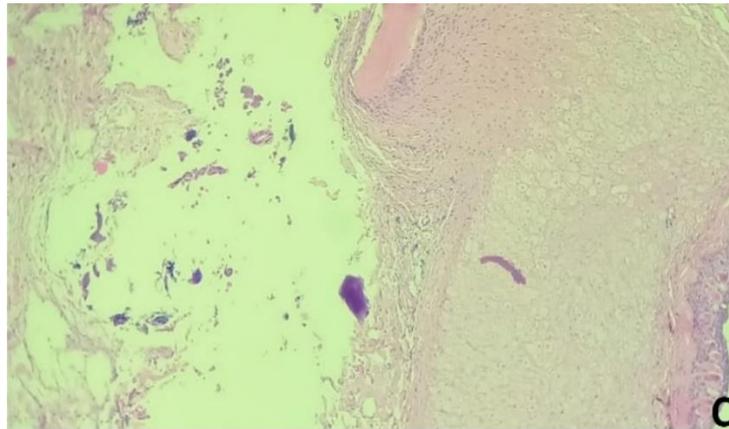


Figura 3. Cambios microscópicos en tejido muscular y cardíaco de pez Capitán de la Sabana (Imágenes en 40x).

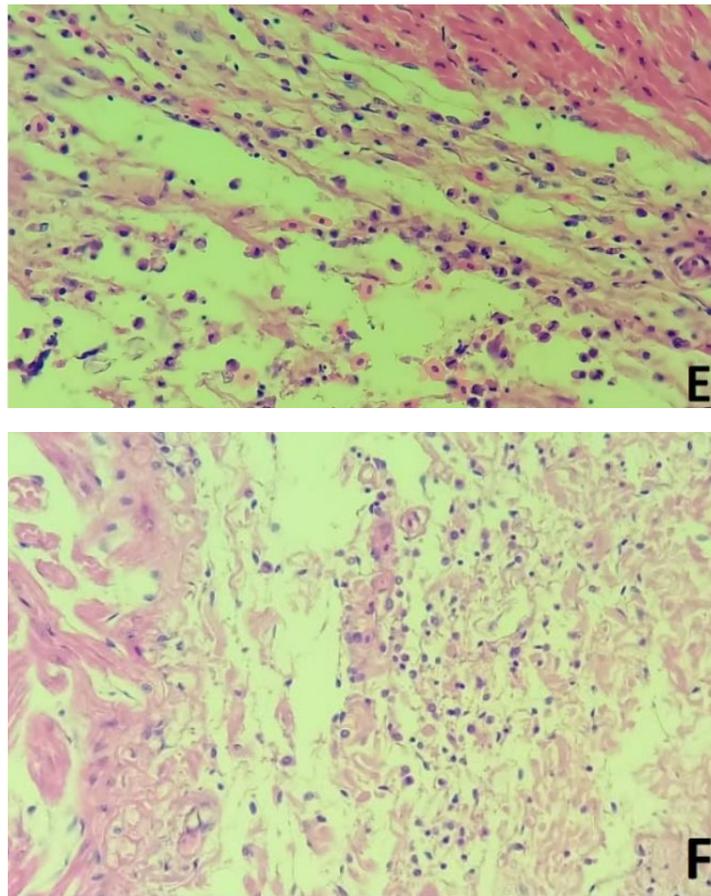
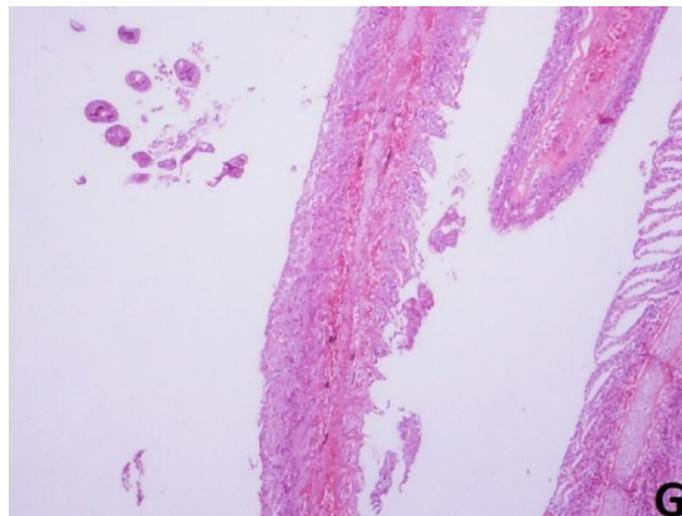
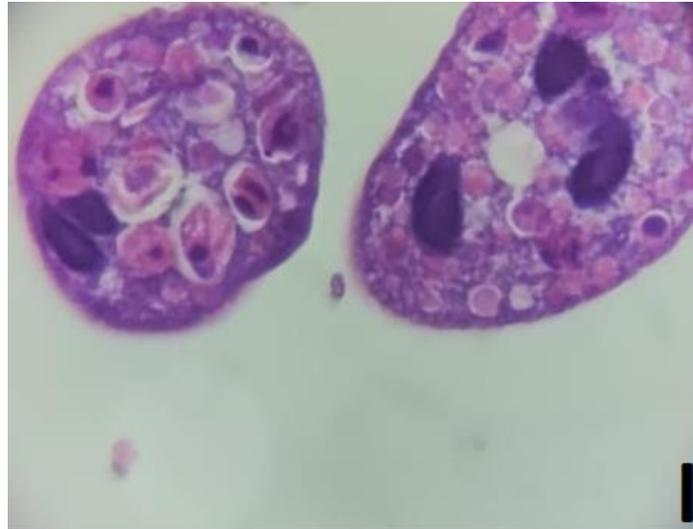
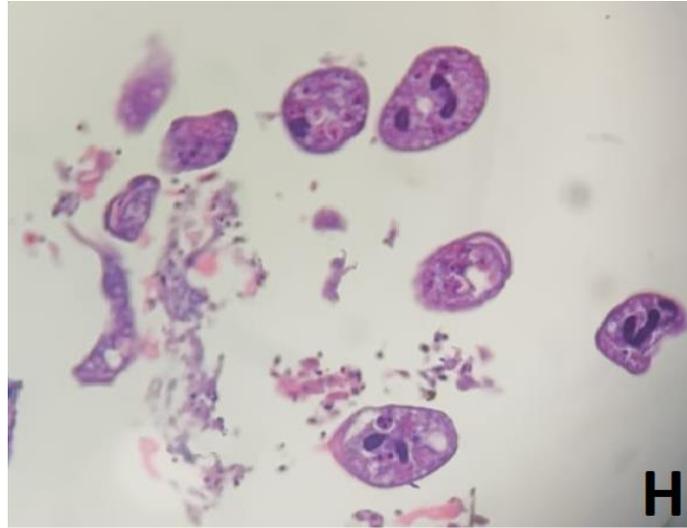


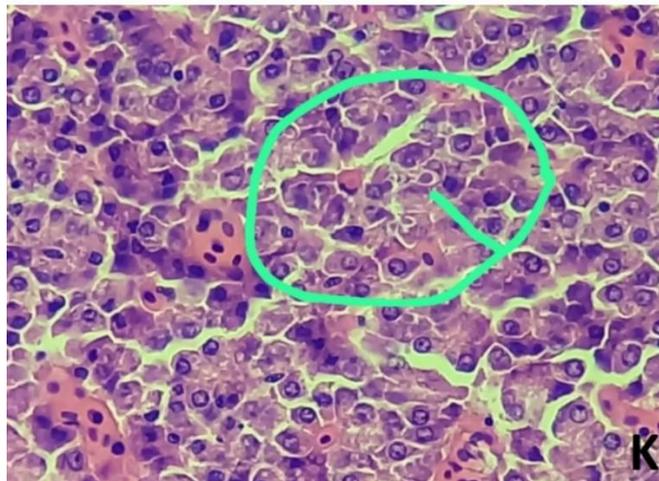
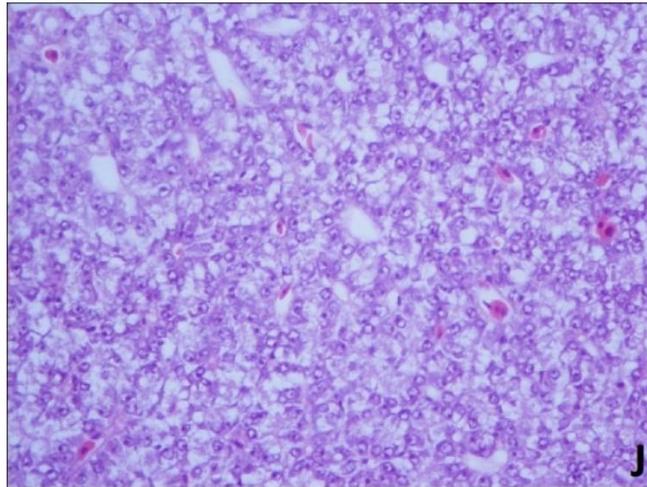
Figura 4. Cambios microscópicos en tejido branquial de pez Capitán de la Sabana (Imágenes en 10x, 40x y 100x).





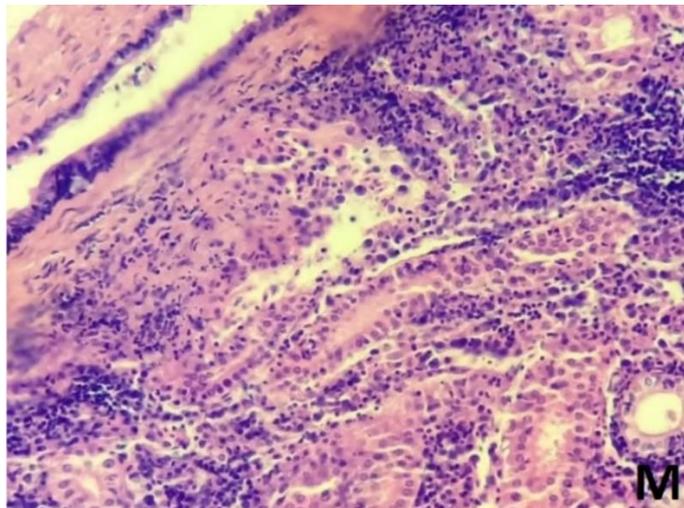
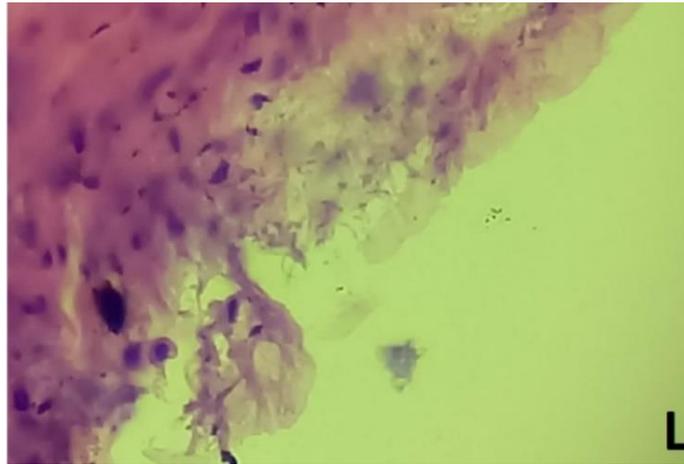
En la imagen G (10x) se puede observar la presencia de acortamiento de las laminillas secundarias (Atrofia), fusión, infiltrado linfocítico severo generalizado, necrosis, congestión y erosión del epitelio; además, en la zona superior a la izquierda se observan estructuras con morfología oval y una capsula que los recubre compatible con quistes parasitarios similares a los encontrados en el tejido tegumentario de la Figura 2. En la imagen H (40x) observamos el grupo de parásitos adyacentes al tejido branquial y en la imagen I (100x) dos parásitos en gran aumento.

Figura 5. Cambios microscópicos en hígado de pez Capitán de la Sabana (imágenes en 40x y 100x).



Al evaluar el hígado se observó congestión moderada de los sinusoides hepáticos (imagen K a 10x) y vacuolización moderada a severa de los hepatocitos compatible con esteatosis. En la imagen K (100x). También se presentó una estructura separando el espacio entre los hepatocitos que tiene forma oval la cual es compatible con coccidia.

Figura 6. Cambios microscópicos en la piel y el riñon de pez Capitán de la Sabana (imágenes en 40x y 40x).



En algunos de los peces analizados se presentaron adicionalmente otras lesiones como la observada en la imagen M (40X) donde se presenta una dermatitis ulcerativa severa focal, con presencia de bacterias filamentosas en la zona de la lesión, de acuerdo con las características de la lesión y la morfología de las bacterias puede asociarse con *Flavobacterium* spp. Adicionalmente, En la imagen M (40x) se observa una glomerulonefritis necrótica moderada y generalizada.

Otras lesiones encontradas fueron en el intestino anterior hiperplasia del epitelio de las vellosidades intestinales, enteritis necrótica/ hemorrágica difusa severa.

Es importante destacar que en los animales evaluados en este estudio se observaron lesiones cutáneas como lo reportado por Rodriguez et al., (2005) en el pez capitán, donde identificaron que los animales mantenidos en cautiverio presentaron lesiones cutáneas y abscesos con incremento bacteriano, y lesiones similares en las branquias como las encontradas en estos peces evaluados por microscopia; esta colonización bacteriana sugiere que estas son oportunistas y pueden ser del género *Aeromona*, y de las enterobacterias de las familias *Escherichia* y *Pseudomonas* las cuales son responsables de

pérdidas de peces durante su aclimatación, cultivo y posterior almacenamiento (Lartseva, 1998).

En las últimas tres décadas *Aeromonas* spp. ha desencadenado brotes en humanos (Praveen et al., 2016) aves y peces (Gowda et al., 2015; Praveen et al., 2014; Cahil, 1990) incluyendo peces, anfibios, reptiles. (Gowda et al., 2015; Cahil, 1990) y hace parte de la flora bacteriana normal de las especies anteriormente mencionadas. Es clasificada como una bacteria Gramnegativa, oxidasa y catalasa positivo, anaerobia facultativa y es un bacilo corto en forma de bastón (Hathaa et al., 2005).

La infección por *Aeromonas* involucra el sistema gastrointestinal y el extraintestinal en seres humanos [Gowda et al., 2015, Xu et al., 2012) en este caso algunos de los peces evaluados presentaron lesiones necro-hemorrágicas muy severas del intestino. El género *Aeromonas* está compuesto de dos grupos diferentes de bacterias el primero por *Aeromonas salmonicida*, que es psicrófila (microorganismos que crecen a temperaturas bajas) y no móvil; el otro grupo compuesto por tres cepas mesófilas, *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. sobria* las cuales son bacterias móviles (Praveen et al., 2014).

Las *Aeromonas* son considerados microorganismos ambientales; estas son de distribución global (Praveen et al., 2016). Las *Aeromonas* motiles son microorganismos acuáticos autóctonos que están presentes en aguas frescas, aguas residuales y salubres (Wei et al., 2015) como también en aguas de bebida cloradas o sin clorar (Janda and Abbott, 2010; Abraham, 2011).

Mientras que, las flavobacterias se consideran importantes patógenos de peces alrededor del mundo; en particular, tres especies se han reportado como causantes de pérdidas económicas considerables en cultivos y peces silvestres: *F. psychrophilum*, *F. branchiophilum* y *F. columnare*. *F. psychrophilum* es bien conocido como el agente causante de la enfermedad bacteriana del agua fría (BCWD) de producir el síndrome de alevines en la trucha arco iris (Nematollahi et al., 2003; Holt et al., 2012). Por ejemplo, *F. branquiófilo* produce invasión bacteriana en las branquias (Shotts and Starliper, 1999; Starliper, 2012), mientras que, *F. columnare* desencadena lesiones vertebrales (Shotts and Starliper, 1999; Declercq et al., 2013).

Aunque estas variedades son de gran importancia, también se han aislado otras especies patógenas para peces de *Flavobacterium* tales como *F. johnsoniae* (Christensen, 1977), *F. succinicans* (Anderson and Ordal, 1967) and *F. hydatis* (Strohl and Tait, 1978), *F. chilense*, *F. araucanum* (Kämpfer et al., 2012) y *F. espartansi* (Loch and Faisal, 2014).

De los géneros de mayor importancia de *Flavobacterium* en piscicultura son *F. psychrophilum* y *F. columnare*, ya que, son las dos especies más investigadas porque afectan principalmente peces de agua dulce lo que conlleva a importantes pérdidas económicas (Wahli and Madsen, 2018). Mientras que, *F. psychrophilum* está relacionado a tratamientos costosos y permanentes en la acuicultura de salmónidos (Nematollahi et al., 2003; Bernardet and Bowman, 2006); siendo *F. columnare* el segundo patógeno más importante en el cultivo de bagre en canal (Wagner et al., 2016). De acuerdo con esto se puede concluir que la ausencia de lesiones histopatológicas en los cortes de columna permite acercarnos a que posiblemente la especie de *Flavobacterium* que afecto la piel de los peces capitanes durante el cautiverio fue *F. psychrophilum*.

Recomendaciones

Los peces capitán de la sabana son peces con hábitos nocturnos, que generalmente son muy activos en la noche, por lo que se recomienda tenerlos aislados de la luz ,ya sea con, polisombra, techos oscuros, tapas de estaqués o macrofitas flotantes; además de reducir la manipulación al mínimo y aplicarles después de la captura durante el acondicionamiento sal a los estanques para estimular la producción de moco y controlar los parásitos que pueden tener algunos de los especímenes y así controlar la mortalidad de los peces durante los primeros días de acondicionamiento. Además, para el control de especies bacteriana se requiere la aplicación a los estanques de antibióticos para reducir las bacterias oportunistas.



OBJETIVO GENERAL. Aunar esfuerzos para fortalecer el estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento de ejemplares adultos en cautiverio, con fines de conservación del capitán de la sabana *Eremophilus mutisii*, Humboldt, 1805.

OBJETIVO ESPECIFICO 2. Evaluar la morfología de poblaciones obtenidos en campo, estado nutricional y sanitario en cautiverio del Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisii*)

ACTIVIDAD 2.4 Redacción de artículo científico sobre los principales agentes patológicos que afectan a los individuos en cautiverio.

PRODUCTO 2.4.1. Un artículo científico redactado (introducción, materiales y métodos, resultados, discusión y bibliografía) en formato de PDF.

Ponderación Producto: 5%

Avance: 5 %

DICIEMBRE 2023

RESPONSABLE

Camilo Alberto Prieto Mojica

A continuación se muestra la versión final del Artículo sobre lesiones histopatológicas en el pez Capitán de la Sabana.

Lesiones histopatológicas presentadas en el pez Capitán de la Sabana (*Eremophilus Mutisii*) durante el manejo en cautiverio en estanques.

Resumen

El Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisii*) es un bagre de agua fría con grandes oportunidades para su producción y el consumo en Colombia. Una de las problemáticas que se ha encontrado durante el manejo en cautiverio, es la presentación de signos de enfermedad que conllevan a mortalidad. Presentándose signos como, natación errática, inapetencia, inactividad y eje de natación alterado. Después de transcurridos 2 días la mayoría de la población comenzó a presentar signos de enfermedad. Los animales en estado avanzado de enfermedad se sacrificaron y seguido a esto, se evaluaron los tejidos por la técnica histopatología con hematoxilina y eosina, encontrando lesiones severas en branquias (fusión de las laminillas y atrofia, necrosis, descamación de las células de epitelio, hiperplasia del epitelio branquial, presencia de bacterias y parásitos), hígado (degeneración grasa y coccidia) piel (infiltración linfocítica, erosiones y úlceras en algunas ocasiones con presencia de parásitos), intestino (enteritis necro hemorrágica e hiperplasia del epitelio de los vilos), bazo y riñón (necrosis, inflamación y depleción linfoide). Se puede concluir que la presentación de estas lesiones se desencadena inicialmente por el estrés inducido por el cambio de ambiente brusco que conlleva a la proliferación de patógenos secundarios, principalmente de tipo bacterianos en branquias, piel y músculos y a la carga parasitaria de algunos peces en los tejidos debido a, que estos peces son silvestres lo cual, termina desencadenando las lesiones presentadas a los pocos días del cautiverio que posteriormente desencadena la sepsis y muerte del animal.

Introducción

En Colombia podemos encontrar el pez Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisii*), este es una especie endémica del altiplano Cundiboyacense, que se puede encontrar en ríos y lagos del altiplano (Borissow y Canosa 2000, Rodríguez 2000; Bonilla et al., 2008; Tonelli et al., 2016), como lo es río Bogotá y lago de Tota (Boyacá), habitando un rango altitudinal entre los 2500 a 3100 m.s.n.m. (Álvarez-León et al., 2012; Lemus-Portillo et al., 2020). Este ha sido catalogado como el bagre de agua dulce, lo cual lo hace una oportunidad para la producción acuícola, ya que, se torna interesante su utilización en el cultivo piscícola en zonas frías (Rosado & González, 2007), esto debido a su tamaño, la calidad de la carne y que por ser una especie nativa puede cultivarse adecuadamente en esta región (Pinilla et al., 2006; Bonilla et al., 2008; Acosta et al., 2018; Lemus-Portillo et al., 2020). Es importante destacar que el capitán de la sabana se distribuye y consume en zonas cercanas a los cuerpos de agua, en donde los habitantes refieren su buen sabor comparándolo con otros peces comerciales como la trucha y la tilapia (Valderrama et al., 2007).

Actualmente existe una gran preocupación ,ya que, se ha observado que existen diferentes factores como la pesca indiscriminada, la reducción de los cuerpos de agua y las especies invasoras que están implicados en el deterioro de los sistemas acuáticos, y han llevado a que el Capitán de la sabana se ha determinado como especie vulnerable (Álvarez et al., 2012), disminuyendo su presencia e incluso

ha desaparecido de algunos cuerpos de agua naturales esto principalmente debido a la disminución del espacio en las lagunas.

La producción en cautiverio enfrenta un gran desafío, ya que, uno de los principales problemas encontrados en esta es que seguido a la captura y acondicionamiento en estanques (adaptación inicial) se observan signos cutáneos, que pueden estar acompañados de petequias, erosiones y que en casos graves pueden evolucionar hasta úlceras cutáneas profundas que finalmente desencadenan el deceso del animal (Rodríguez et al., 2005). El siguiente artículo tiene como finalidad identificar y clasificar las lesiones macro y microscópicas presentes en los peces con signos de enfermedad en estanques.

Materiales y métodos

Los ejemplares fueron obtenidos y capturados por pescadores con malla, de fuentes de agua ubicados en los municipios de Villa Pinzón, Suesca, Cucunuba y Fomeque. Posteriormente, los individuos fueron transportados vivos a una granja especializada en la producción de trucha (Guasca, Cundinamarca); el predio se localiza a 2850 msnm y se abastece con aguas del Río Siecha que tiene su origen en el sistema del páramo de Chingaza; la temperatura media del agua de los estanques es de $10,5 \pm 1,7$ °C, con un pH de 7,1 y oxígeno disuelto de $7,4 \text{ mg l}^{-1}$ (>95% saturación).

Para el manejo de los peces se dispuso de una batería compuesta por seis tanques circulares plásticos (250 L), cada uno con su correspondiente cubierta. Cada unidad contaba con entrada y salida independiente, con un flujo controlado de máximo $0,5 \text{ litros/segundo}^{-1}$. Operando con agua directa de la fuente, en caso de que sea necesario.

En cada unidad fueron ubicados 9 a 10 ejemplares, para un total de 57 peces destinados al seguimiento, el cual tenía una duración de 60 días, los animales que presentaron signos de enfermedad y evolucionaron negativamente fueron insensibilizados con una solución de eugenol a una concentración de 30 mg/lit (Acuña y Escobar, 2017) y posteriormente fueron sacrificados por corte en la primera articulación cervical con un bisturí. Seguido a esto, se procedió con la técnica de necropsia como lo describe en peces Morales et al., (2018), se examinaron todas las vísceras macroscópicamente y se tomaron muestras de aproximadamente 1 cm de cada una de ellas, estas fueron acondicionadas en recipientes plásticos formalina buferada al 10% por 48 horas para su fijación, luego fueron incluidas en parafina y procesadas por la técnica histopatológica de Hematoxilina & Eosina (H&E), donde brevemente, se comenzó por introducir las muestras en concentraciones de alcohol 70% de forma progresiva hasta llegar al 99%, después los fragmentos se sumergieron en xilol por 2 horas, posteriormente estos tejidos fueron incluidos en parafina para ser cortados en el microtomo a una medida de 4 micras y luego coloreados con H&E. Las láminas fueron observadas utilizando un microscopio de luz (Microscopio Nikon) a 10x, 40x y 100x y se describieron los cambios microscópicos encontrados en los cortes que presenten lesiones

Resultados

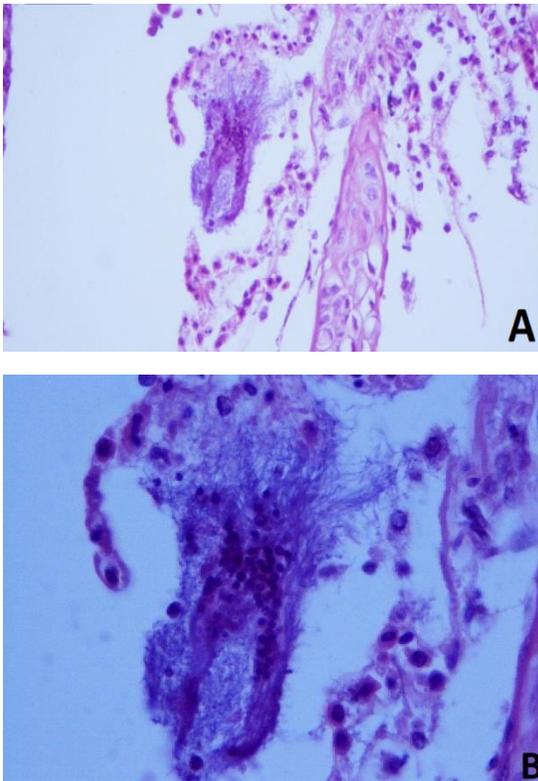
El análisis histopatológico fue realizado en animales que presentaron signos marcados de enfermedad como inapetencia, depresión, natación errática o lesiones en piel, observándose que en los órganos: encéfalo y medula espinal no se encontraron lesiones, mientras que el tejido branquial, hígado, piel, bazo, riñón, corazón, intestino se encontraron cambios patológicos.

En el tejido branquial se observó colonización de bacterias filamentosas (laminillas primarias y secundarias) (imagen A - 40x), además degeneración hidrópica con atrofia de las laminillas secundarias hasta desaparecer (Necrosis), erosión y células inflamatorias en el centro de colonización bacteriana.

Se evidencia una zona de colonización bacteriana branquial (imagen B- 100x) lo cual es compatible con *Aeromonas*.

Al observar el corte de piel se evidenció la presencia de parásitos sésiles subcutáneos (imagen C) los cuales pueden ser compatibles con *Metacestodo* o *Echinococcus* (10x). Al igual en piel se observa infiltración linfocítica de la epidermis (imagen D 40x), algunas de las lesiones evolucionaron a erosiones cutáneas o úlceras profundas que pueden ser causadas por géneros de bacterias como *Flavobacterium* spp.

Figura 1. Cambios microscópicos en tejido branquial de pez Capitán de la Sabana (Imagen en 40x y 100x).



Además, en algunos animales se observó la presencia miositis necrótico/hemorrágica abscedativa generalizada (Imagen E, 40x) y de pericarditis necrótica generalizada (Imagen F, 40x), estas lesiones posiblemente están asociadas a la sepsis causada por las *Aeromonas*.

Figura 2. Cambios microscópicos en tejido Cutaneode pez Capitán de la Sabana (Imágenes en 10x y 40x).

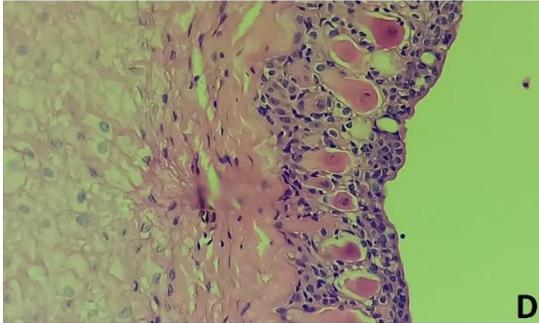
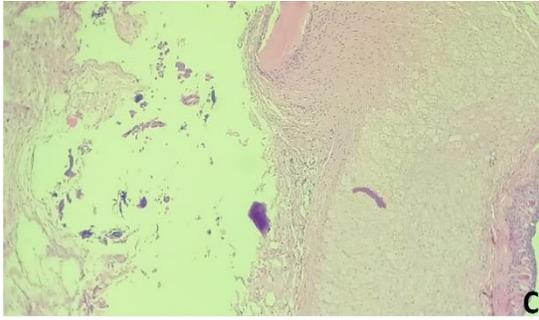


Figura 3. Cambios microscópicos en tejido muscular y cardíaco de pez Capitán de la Sabana (Imágenes en 40x).

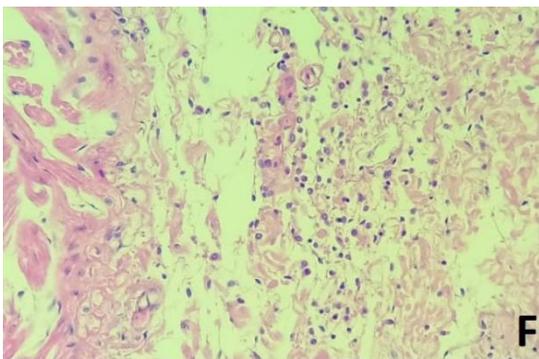
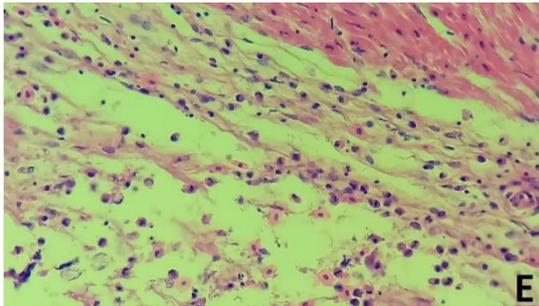
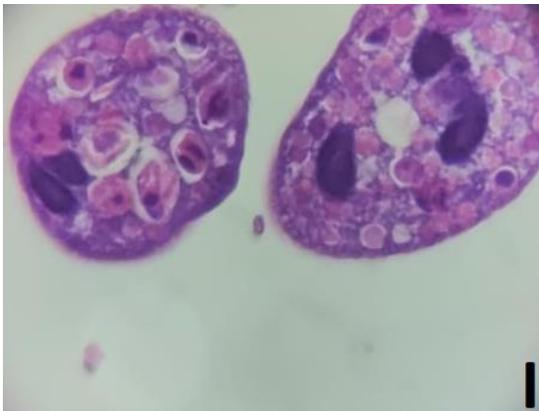
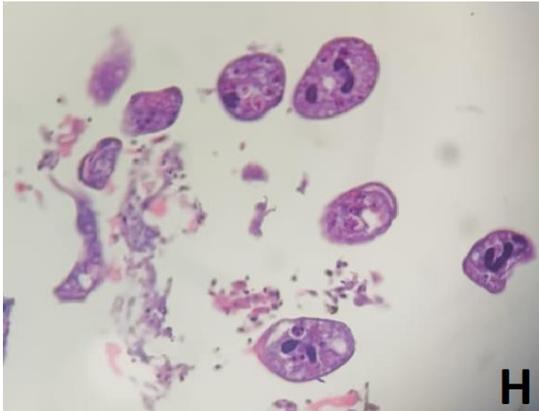
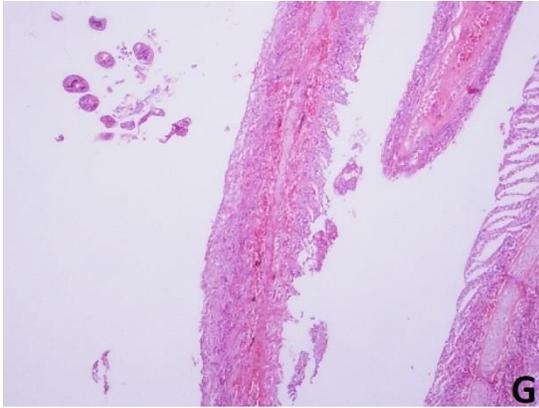
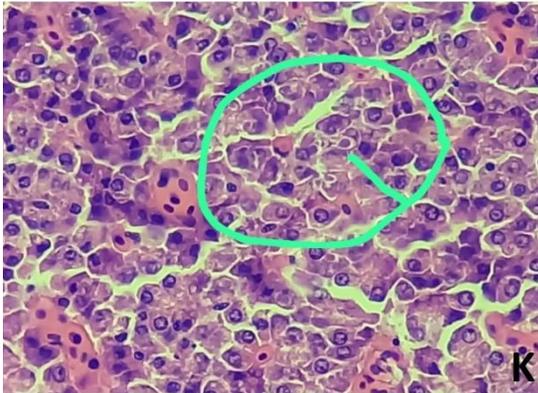
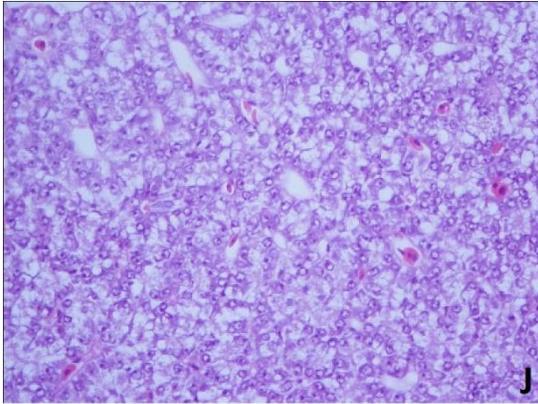


Figura 4. Cambios microscópicos en tejido branquial de pez Capitán de la Sabana (Imágenes en 10x, 40x y 100x).



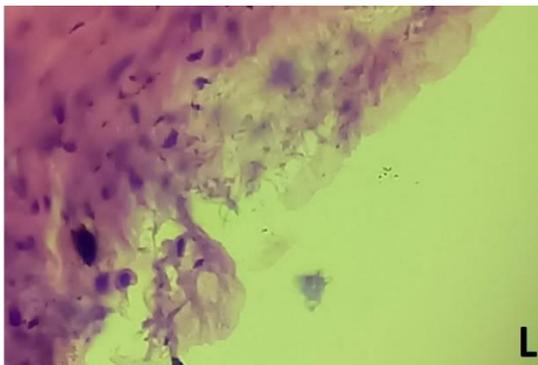
Es importante destacar que en algunos de los tejidos analizados fueron observadas estructuras parasitarias, como lo es en el tejido branquial en donde se pudo la presencia de acortamiento de las laminillas secundarias (Atrofia), fusión, infiltrado linfocítico severo generalizado, necrosis, congestión y erosión del epitelio; además, en la zona de arriba a la izquierda (imagen G- 10x) se observan estructuras con morfología oval y una capsula que los recubre compatible con quistes parasitarios similares a los encontrados en el tejido tegumentario de la Figura 2. Al igual en se observa la presencia de un grupo de parásitos adyacentes en la imagen H (40x) y en la imagen I, la estructura de estos parásitos es compatible con Metacestodo o Echinococcus.

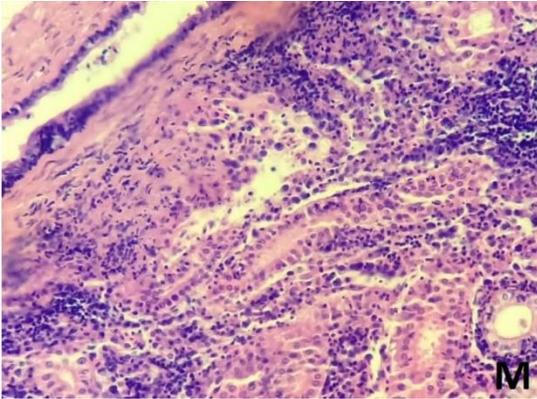
Figura 5. Cambios microscópicos en hígado de pez Capitán de la Sabana (imágenes en 40x y 100x).



Al evaluar el hígado se observó congestión moderada de los sinusoides hepáticos (imagen K- 10x) y vacuolización moderada a severa de los hepatocitos compatible con esteatosis y una estructura separando el espacio entre los hepatocitos que tiene forma oval la cual es compatible con coccidia (imagen K-100x).

Figura 6. Cambios microscópicos en la piel y el riñón de pez Capitán de la Sabana (imágenes en 40x y 40x).





En algunos de los peces analizados se presentaron adicionalmente otras lesiones como la observada en la imagen M (40X) donde se presenta una dermatitis ulcerativa severa focal, con presencia de bacterias filamentosas en la zona de la lesión, de acuerdo con las características de la lesión y la morfología de las bacterias puede asociarse con *Flavobacterium* spp. Adicionalmente, se observa una glomerulonefritis necrótica moderada y generalizada (imagen M- 40x).

Otras lesiones encontradas fueron en el intestino anterior hiperplasia del epitelio de las vellosidades intestinales, enteritis necrótica/ hemorrágica difusa severa.

Discusión

Es de destacar que las lesiones fueron observadas en branquias, hígado, piel, bazo, riñón, corazón lo cual es compatible con lo descrito por Xing et al., (2012) que reportaron lesiones similares en branquias e hígado de peces carpas sometidos a estrés oxidativo por desafío con clorfiripos y azatrina que son productos comerciales utilizados como insecticidas.

Al igual. lesiones similares han sido encontradas en bagres (orden Siluriformes) principalmente en las branquias, los filamentos y las laminillas cuando son sometidos a estrés ambiental por cambios físico químicos en el agua, estos cambios físico químicos del agua fueron causado por incremento en la concentración de metales pesados, cuantificando las altas concentraciones de estos en las muestras de filetes de los peces evaluados (Amaeze et al., 2015), esto nos lleva a pensar que las branquias de los bagres son el tejido primario en que se presentan las lesiones; lo cual fue ratificado por el estudio de Pereira et al., (2013) quien reporto lesiones similares en peces portugueses como barbel (*Luciobarbus bocagei*), chub (*Squalius carolitertii*) y nase (*Pseudochondrostoma* sp.) de río donde se encontraron incrementos de minerales en el agua.

Es importante destacar que en los animales evaluados en este estudio se observaron lesiones cutáneas como lo reportado por Rodríguez et al., (2005) en el pez capitán, donde identificaron que los animales mantenidos en cautiverio presentaron lesiones cutáneas y abscesos con incremento bacteriano, y lesiones similares en las branquias. La colonización bacteriana sugiere que estas son oportunistas y pueden ser del género *Aeromona*, y de las enterobacterias de las familias *Escherichia* y *Pseudomonas* las cuales son responsables de pérdidas de peces durante su aclimatación, cultivo y posterior almacenamiento (Lartseva, 1998).

En las últimas tres décadas *Aeromona* spp. ha desencadenado brotes en humanos (Praveen et al., 2016) aves y peces (Gowdaet al., 2015; Praveen et al., 2014; Cahil, 1990) incluyendo peces, anfibios,

reptiles. (Gowda et al., 2015; Cahil, 1990) y hace parte de la flora bacteriana normal de las especies anteriormente mencionadas. Es clasificada como una bacteria Gramnegativa, oxidasa y catalasa positivo, anaerobia facultativa y es un bacilo corto en forma de bastón (Hathaa et al., 2005). La infección por *Aeromonas* involucra el sistema gastrointestinal y el extraintestinal en seres humanos [Gowda et al., 2015, Xu et al., 2012) y en este caso se observó que algunos de los peces evaluados presentaron lesiones necro-hemorrágicas muy severas del intestino.

El género *Aeromonas* está compuesto de dos grupos diferentes de bacterias el primero por *Aeromonas salmonicida*, que es psicrófila (microorganismos que crecen a temperaturas bajas) y no móvil; el otro grupo compuesto por tres cepas mesófilas, *A. hydrophila*, *A. caviae* y *A. sobria* las cuales son bacterias móviles (Praveen et al., 2014). Estos son considerados microorganismos ambientales; con distribución global (Praveen et al., 2016). Entre ellas se destacan las *Aeromonas* motiles que son microorganismos acuáticos autóctonos que están presentes en aguas frescas, aguas residuales y salubres (Wei et al., 2015).

Por otro lado, encontramos las flavobacterias que se consideran importantes patógenos de peces alrededor del mundo; en particular, tres especies se han reportado como causantes de pérdidas económicas considerables en cultivos y peces silvestres: *F. psychrophilum*, *F. branchiophilum* y *F. columnare*. *F. psychrophilum* es bien conocido como el agente causante de la enfermedad bacteriana del agua fría (BCWD) de producir el síndrome alevines en la trucha arco iris (Nematollahi et al., 2003; Holt et al., 2012). Por ejemplo, *F. branquiófilo* produce invasión bacteriana en las branquias (Shotts and Starliper, 1999; Starliper, 2012), mientras que, *F. columnare* desencadena lesiones vertebrales (Shotts and Starliper, 1999; Declercq et al., 2013).

Aunque estas variedades son de gran importancia, también se han aislado otras especies patógenas de *Flavobacterium* para peces tales como *F. johnsoniae* (Christensen, 1977), *F. succinicans* (Anderson and Ordal, 1967), *F. hydatis* (Strohl and Tait, 1978), *F. chilense*, *F. araucanum* (Kämpfer et al., 2012) y *F. espartansi* (Loch and Faisal, 2014).

De los géneros de mayor importancia de *Flavobacterium* en piscicultura son *F. psychrophilum* y *F. columnare*, ya que, son las dos especies más investigadas porque afectan principalmente peces de agua dulce lo que con lleva a importantes pérdidas económicas (Wahli and Madsen, 2018). Mientras que, *F. psychrophilum* está relacionado a tratamientos costosos y permanentes en la acuicultura de salmónidos (Nematollahi et al., 2003; Bernardet and Bowman, 2006) *F. columnare* se destaca por ser el segundo patógeno más importante en el cultivo de bagre en canal (Wagner et al., 2016). De acuerdo con esto se puede concluir que la ausencia de lesiones histopatológicas en los cortes de columna permite acercarnos a que posiblemente la especie de *Flavobacterium* que afecto la piel de los peces capitanes durante el cautiverio fue *F. psychrophilum*.

Los metacestodos son las formas larvarias de los cestodos también denominadas oncosfera, este ciclo inicia cuando el pez consume el huevo el cual eclosiona en el intestino delgado y libera la larva u oncosfera, que atraviesa la pared intestinal y migra por medio de la circulación sanguínea a los distintos órganos diana destacándose principalmente el hígado. En los órganos la oncosfera se convierte en quiste y es llamado metacestodo, estos son quistes también han sido reportados como formas parasitarias enquistadas en las aletas y escamas de los peces huéspedes intermediarios, son subglobulares o en forma de disco y tienen entre 0,14 y 0,16 mm de diámetro, y tienen gránulos en su interior. Estructuras parasitarias similares fueron descritas en peces de agua dulce en la República de Corea, donde se evidenciaron 16 especies de metacercarias de trematodos en 7 familias en peces de agua dulce, entre las familias parasitarias encontradas se destacan *Opisthorchiidae*, *Heterophyidae*,

Echinostomatidae, Clinostomidae, Cyathocotylidae, Cryptogonimidae y Bucephalidae (Sharma, 2016; Sohn, 2009; Macpherson et al., 1985). Entre estas familias la que más se asimila a las estructuras parasitarias observadas en los Capitanes de este estudio son los Echinostomatidae. En 2008 Jenkins et al., reportaron quistes de Echinostomatidae en peces del este de Queensland, Australia.

El presente artículo se organizó y se publicará de acuerdo con la normativa de la revista de investigaciones de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales.

Conclusiones:

El presente estudio mostró que los órganos que presentan inicialmente cambios patológicos son las branquias, hígado, piel, bazo, riñón, corazón, intestino siendo los cambios patológicos más severos en órganos como: branquias, intestino, piel y corazón que llevaron al empeoramiento de los animales afectados.

En general, este estudio muestra que, la respuesta biológica de las branquias son biomarcadores útiles para identificar el estado de salud de los animales y del ambiente en que se encuentran.

Se recomienda realizar una caracterización molecular o inmunohistoquímica en las lesiones macroscópicas para identificar y confirmar los agentes infecciosos bacterianos y complementarlos con técnicas de flotación para aislamiento, clasificación e identificación de estructuras parasitarias como las encontradas en la piel, branquias y de esta manera reducir las lesiones presentadas de los peces en sistemas de confinamiento.

Se recomienda realizar una medición de contaminantes en el agua en cautiverio, como amonio, amoniaco, metales pesados o hidróxido de carbono.

Referencias

Abraham, T.J. (2011) Food safety hazards related to emerging antibiotic resistant bacteria in cultured freshwater fishes of Kolkata, India. *Adv. J. Food Sci. Technol.*, 3(1):69-72.

Acosta, J. A., Berruecos, B. Z., y R. Rosado. 2018. Desarrollo embrionario del capitán de la sabana, *Eremophilus mutisii* (Pisces: Trichomycteridae),” *Rev. Med. Vet. (Bogotá)*. 35: 137–147.

Álvarez-León, R., Rodríguez-Forero, A., González-Acosta, J. A., Rosado-Puccini, R., Hernández-Barrero, S., Valderrama-Barco, M., Pinilla, G., Lehmann P., Forero-Useche, J. E., Prada-Pedreras S., DoNascimento, C., y J.

Amaeze, N. H., Adeyemi, R. O., & Adebesein, A. O. (2015). Oxidative stress, heat shock protein, and histopathological effects in the gills of African catfish, *Clarias gariepinus*, induced by bridge runoffs. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(1), 172. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4390-0>.

Anderson RL, Ordal EJ. (1961) *Cytophaga succinicans* sp. n., a facultatively anaerobic, aquatic myxobacterium. *J Bacteriol.* 81(1): 130.

Bernardet J-F, Bowman JP. (2006) The genus *Flavobacterium*. In: *The prokaryotes*. Berlin: Springer. p. 481–531.

Borissow, C. y Canosa, A., (2000). Aislamiento e identificación de las bacterias presentes en lesiones externas e internas del capitán de la sabana, *Eremophilus mutisii*.

Bonilla L. R.J., Quintero Virgüez, M., Gómez Ramirez, E., Rodríguez Caicedo D. y H. Hurtado Giraldo. (2008). Histología y morfometría de piel del pez *Eremophilus mutisii* (Trychomecteridae, Siluriformes),” *Rev. Biol. Trop.*, vol. 56, no. 2, pp. 885–893, 2008.

Bonilla Lizarazo, R. J., Quintero Virgüez, M., Gómez Ramírez, E., Rodríguez Caicedo, D., & Hurtado Giraldo, H. (2008). Histología y morfometría de piel del pez *Eremophilus mutisii* (Trychomecteridae, Siluriformes). *Revista de Biología Tropical (International Journal of Tropical Biology)*, 56(2), 885-893.

Cahil, M.M. (1990) Bacterial flora of fishes: A review. *Microbiol. Ecol.*, 19:21-41.

Christensen PJ. (1977) The history, biology, and taxonomy of the *Cytophaga* group. *Can J Microbiol.* 23(12):1599–653. <https://doi.org/10.1139/m77-236>.

Declercq AM, Haesebrouck F, Van den Broeck W, Bossier P, Decostere A. (2013) Columnaris disease in fish: a review with emphasis on bacterium-host interactions. *Vet Res.* 44(1):27. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-27>.

Gowda, T.K., Reddy, V.R., Devleeschauwer, B. (2015) Isolation and seroprevalence of *Aeromonas* spp. among common food animals slaughtered in Nagpur, Central India. *Foodborne Pathog. Dis.*, 12(7):626-630.

Guerrero-Kommritz. (2012). *Eremophilus mutisii* Humboldt 1805. En: Mojica J. I., Usma J. S., Álvarez-León, R. y C. A. Lasso (2012). Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales de Colombia, WWF Colombia y Universidad de Manizales. Bogotá, D. C., Colombia. 319 p.

Hathaa, M., Vivekanandhan, A.A., Joice, G.J. and Christol, H. (2005) Antibiotic resistance pattern of motile aeromonads from farm raised fresh water fish. *Int. J. Food Microbiol.*, 98:131-134.

Holt RA, Bertolini J, Cain K, Long A. (2012) 1.2. 2 Coldwater disease. *AFS Fish Health Section Blue Book*.

Kämpfer P, Lodders N, Martin K, Avendaño-Herrera R. (2012) *Flavobacterium chilense* sp. nov. and *Flavobacterium araucanum* sp. nov., isolated from farmed salmonid fish. *Int J Syst Evol Microbiol.* 62(6):1402–8. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.033431-0>.

Jenkins DJ, Allen L, Goulet M. Encroachment of *Echinococcus granulosus* into urban areas in eastern Queensland, Australia. *Aust Vet J.* 2008 Aug;86(8):294-300. doi: 10.1111/j.1751-0813.2008.00327.x. PMID: 18673469.

Lartseva LV. (1998) Sanitary and Microbiological Assessment of Marketable Fish in the Volga-Caspian Sea Region. *Gig Sanit.*; (5):25-30.

Lemus-Portillo C., Echavarría-Pedraza, M., Rojas, J., Álvarez-Díaz, J., León-Pardo, L., Aguilar-orjuela, S. y J. Maldonado. 2020. Estado de conservación y distribución del pez de agua dulce capitán de la sabana *Eremophilus mutisii* en Cundinamarca, Colombia. *Actual. Biol.* 42 (122): 1-14.

Loch TP, Faisal M. (2014) *Flavobacterium spartansii* sp. nov., a pathogen of fishes, and emended descriptions of *Flavobacterium aquidurensis* and *Flavobacterium araucanum*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 64(2):406–12. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.051433-0>.

051433-0.

Mallatt, J., 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42, 630–648.

Macpherson CN, French CM, Stevenson P, Karstad L, Arundel JH. Hydatid disease in the Turkana District of Kenya, IV. The prevalence of *Echinococcus granulosus* infections in dogs, and observations on the role of the dog in the lifestyle of the Turkana. *Ann Trop Med Parasitol.* 1985 Feb;79(1):51-61. doi: 10.1080/00034983.1985.11811888. PMID: 3985706.

Maldonado-ocampo, J., Vari, R., Usma, J. (2008). Checklist of the Freshwater Fish of Colombia. *Biota Colombiana.* 9(2):143-237.

Mojica, J., Usma, J., Alvarez-leon, R., Lasso, C.A. (2012). Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia 2012. 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. 319p.

Morales Briceño, A., Molina, M., Brito, Y., Moreno, Y., Méndez Briñez, O., Álvarez Duarte, M., Esteves, C., & Moya Acosta, M. (2018). Técnicas de necropsia y toma de muestras en animales de experimentación: Una revisión bibliográfica y actualización. *Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"*, 49(2).

Nematollahi A, Decostere A, Pasmans F, Haesebrouck F. (2003) *Flavobacterium psychrophilum* infections in salmonid fish. *J Fish Dis.* 26(10):563–74. <https://doi.org/10.1046/j.13652761.2003.00488.x>

Pereira, S., Pinto, A. L., Cortes, R., Fontainhas-Fernandes, A., Coimbra, A. M., & Monteiro, S. M. (2013). Gill histopathological and oxidative stress evaluation in native fish captured in Portuguese northwestern rivers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 90, 157–166. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.12.024

Pinilla, G., Beltran, S., y M. Mayorga. (1992). Estado actual de las poblaciones de *Eremophilus mutisii* Humboldt, 1805 (Pisces: Trichomycteridae) en algunos cuerpos de agua del altiplano Cundiboyacense. *Cent. Investigaciones Científicas, Universidad Jorge Tadeo Lozano.* Bogotá DC.

Praveen, P. K., Debnath, C., Shekhar, S., Dalai, N., & Ganguly, S. (2016). Incidence of *Aeromonas* spp. infection in fish and chicken meat and its related public health hazards: A review. *Veterinary World*, 9(1), 6-11. doi:10.14202/vetworld.2016.6-11

Praveen, P.K., Debnath, C., Pramanik, A.K., Shekhar, S. and Dalai, N. (2014) Incidence and biochemical characterization of *Aeromonas* species isolated from retail fish and chicken in North Kolkata region. *J. Cell Tissue Res.*, 14(3):4609-4612.

Rodríguez A', Montano E', Rodríguez Y. (2005) "Evaluación Preliminar de las Patologías Cutáneas Asociadas con la Aclimatación en Cautiverio del 'Capitan de la Sabana', *Eremophilus mutisii*". *Acta Biológica Colombiana*, Vol. 70, No. 2, 123-728.

Sharma, Bindu. (2016). Studies on prevalence of cestode parasites in fresh water fish, *Channa punctatus* from Meerut (Uttarpradesh) India. *Journal of Applied and Natural Science.* 8. 485-488. 10.31018/jans.v8i1.822.

Shotts Jr E, Starliper C. (1999) Flavobacterial diseases: columnaris disease, cold-water disease and bacterial gill disease. In: AGRIS, editor. CABI international.

Sohn WM. Fish-borne zoonotic trematode metacercariae in the Republic of Korea. *Korean J Parasitol.* 2009 Oct;47 Suppl(Suppl):S103-13. doi: 10.3347/kjp.2009.47.S.S103. PMID: 19885326; PMCID: PMC2769214.

Starliper CE. (2012) 1.2. 1 Bacterial gill disease. AFS Fish Health Section Blue Book.

Strohl WR, Tait LR. (1978) *Cytophaga aquatilis* sp. nov., a facultative anaerobe isolated from the gills of freshwater fish. *Int J Syst Evol Microbiol.* 28(2):293–303. <https://doi.org/10.1099/00207713-28-2-293>.

Tonelli, M., Lasso, C., Cornelio A., Jiménez-Segura, L. y N. Cox. (2016). Estado de conservación y distribución de la biodiversidad de agua dulce en los andes tropicales. UICN, Gland Suiza, Cambridge, UK y Arlington, USA.

Valderrama M, Garzón A, Hernández S. (2007) Conservación de los peces nativos capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*) y guapucha (*Grundulus bogotensis*) en las lagunas de Fúquene, Cucunubá y Palacio. En: Fúquene, Cucunubá y Palacio: Conservación de la biodiversidad y manejo sostenible de un ecosistema lagunar andino. Bogotá: Fundación Humedales-Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt; p. 185-202.

Wahli, T., & Madsen, L. (2018). Flavobacteria, a Never Ending Threat for Fish: a Review. *Current Clinical Microbiology Reports*, 5(1), 26–37. <https://doi.org/10.1007/s40588-018-0086-x>.

Wagner BA, Wise DJ, Khoo LH, Terhune JS. The epidemiology of bacterial diseases in food-size channel catfish. *J Aquat Anim Health.* 2002;14(4):263–72. <https://doi.org/10.1577/1548-29>. Rochat T, Fujiwara-Nagata E, Calvez S, Dalsgaard I, Madsen L, Calteau A, Lunazzi A, Nicolas P, Wiklund T, Bernardet JF, 8667(2002)014<0263:TEOBDI>2.0.CO;2.

Wei, L.S., Mustakim, M.T., Azlina, I.N., Zulhisyam, A.K., Anamt, M.N., Wee, W. and Huang, N.M. (2015) Antibiotic and heavy metal resistance of *Aeromonas* spp. isolated from diseased red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.). *Ann. Res. Rev. Biol.*, 6(4):264-269

Xing, H., Li, S., Wang, Z., Gao, X., Xu, S., & Wang, X. (2012). Oxidative stress response and histopathological changes due to atrazine and chlorpyrifos exposure in common carp. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103, 74–80. doi: 10.1016/j.pestbp.2012.04.003.

Xu, D.H., Pridgeon, J.W., Klesius, P.H. and Shoemaker, C.A. (2012) Parasitism by protozoan *Ichthyophthirius multifiliis* enhanced invasion of *Aeromonas hydrophila* in tissues of channel catfish. *Vet. Parasitol.*, 184:101-107.



OBJETIVO GENERAL. Aunar esfuerzos para fortalecer el estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento de ejemplares adultos en cautiverio, con fines de conservación del capitán de la sabana *Eremophilus mutisii*, Humboldt, 1805.

OBJETIVO ESPECIFICO 3. Socialización y divulgación de los resultados del proyecto para contribuir al conocimiento del pez capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*)

ACTIVIDAD 3.1 Divulgación de los resultados del proyecto dirigidas a público en la cuenca alta del río Bogotá en Villa Pinzón, embalse del Neusa (río Neusa tributario del río Bogotá) y laguna de Cucunubá.

PRODUCTO 3.1.1. Tres talleres de socialización de resultados a la comunidad de influencia del pez capitán de la Sabana sobre estrategias de manejo y alimentación en cautiverio un (1) taller en la cuenca alta del río Bogotá en Villa Pinzón, embalse del Neusa (río Neusa tributario del río Bogotá) y laguna de Cucunubá.

Ponderación Producto: 10%

Avance: 10%

DICIEMBRE 2023

RESPONSABLE

Camilo Alberto Prieto Mojica

Con el objetivo de dar a conocer el estudio, obtener información sobre el capitán de la sabana e invitar a participar a en el estudio a los pescadores locales, se realizó la socialización del proyecto en las comunidades de Villapinzón, aquellas asociadas al embalse del Neusa (Cogua y Tausa) y Cucunubá (Fúquene).

- **TALLER DE SOCIALIZACION en Villapinzón:**

Fecha: 2 de noviembre.

Lugar: Biblioteca Municipal Centro Lúdico de Villapinzón.

Asistieron a la reunión 10 personas de las cuales nueve fueron mujeres y uno hombre (Anexo 1).

Los resultados de las encuestas identificaron que solamente cuatro personas mencionan conocer al capitán de la sabana. Se hace evidente que la comunidad de Villapinzón no tiene cultura de la pesca por lo que no fueron identificados pescadores locales.

Se reconocen las quebradas Piedras Gordas, Sonza, río Funza como cuerpos de agua donde se encuentra el capitán de la sabana.





Socialización en Villapinzón y visita a la quebrada Piedras Gordas, desembocando en el río Funza que forma el río Bogotá.

- **TALLER DE SOCIALIZACION en Fuquene:**

Fecha: 10 de noviembre.

Lugar: . Fundación Humedales Sede Fúquene.

Teniendo en cuenta que los pescadores de la laguna de Fúquene son los mismos que realizan la actividad de la pesca en la laguna de Cucunubá, se realizó la socialización del proyecto en la Sede de la Fundación Humedales en Fúquene (Anexo 2).

Asistieron 12 personas de las cuales todas mencionan conocer el capitán de la sabana y nueve de ellas lo pescan. La zona es netamente pescadora como su medio de subsistencia.

Fueron identificados el ríos Fúquene, Tagua, las quebradas de Monroy, Vallabo de los Zorros, Villeta, las Nutrias y lagunas Fuquene, Cucunubá y Guatancuy como los cuerpos de agua donde puede encontrarse el capitán de la sabana.



Socialización en Fúquene (Laguna de Cucunubá).

- **TALLER DE SOCIALIZACION en Neusa:**

Fecha: 17 de noviembre.

Lugar: Salón comunal de Tausa y Administración Parque del Neusa (comunidad de Cogua).

En total asistieron 13 personas de las cuales 9 mencionan conocer al capitán de la sabana, siendo dos de ellas son pescadores de la especie. No obstante, afirman la

existencia de más pescadores pero su presencia en la reunión estuvo intervenida por el miedo a ser una reunión de regulación de la pesca (Anexo 3).

De acuerdo con las encuestas realizadas se consideraron a las dos comunidades como pescadoras. Adicionalmente se identificaron las quebradas Grande, Guanquica, La Ñaca, Chapinero, Llano chiquito como los cuerpos de agua donde se encuentra el capitán de la sabana adicional a la laguna del Neusa.



Socialización en las comunidades asociadas al embalse del Neusa, Cogua y Tausa.

ANEXO 3. Registro de asistencia socialización del proyecto en Neusa (comunidades de Coua y Tausa).

DCA		Registro de Asistencia			
Actividad: Día <u>II</u> - Curso / Taller ABC de la Investigación a la Innovación		SESIÓN <u> </u>		FECHA: <u>17-Nov-2023</u>	
Facilitador: German Sarmiento - Juan A. Torres - Ana Delia Pinzón		Socialización Neusa.			
Dirección de Investigación, Innovación y Emprendimiento - Centro ThinkGua®					
N°	NOMBRE	CARGO / DEPENDENCIA	CORREO	TELEFONOS	FIRMA
1	Jimmy Velandía	Ambientalista	jimmyvelandia@gmail.com	317584477	[Firma]
2	Jimy María Barcel G.	CAR - DIA	barcelina22@gmail.com	315603375	[Firma]
3	Corina Coron A.	CAR- DIA	ccorona@car.gov.co	3133891513	[Firma]
4	Esteban Ardanes - S.	seguridad, conserval	ardaneskm@gmail.com	313276967	[Firma]
5	Juan David Wilbail C.	seguridad	juandavidwilbail779@gmail.com	3108894197	[Firma]
6	HERNÁN R. RIVERA P.	CAR-DIA	hernan.rivera1991@gmail.com	3125718776	[Firma]
7	Andrés Ballesteros H.	CAR - DIA	andresballesterosmat@gmail.com	3214077463	[Firma]
8	Alejandro Rodríguez Arcub	Trochador Tausa	diarodriguezalade@gmail.com	3245165013	[Firma]
9	Blanca Arevalo	Hogar	blancaarevalo23@gmail.com	3101112299	[Firma]
10	Valentina Gomez R.	JAC	valentinagomez@gmail.com	322705747	[Firma]
11	Paula Fernanda Diaz B.	Estudiante	pa0202406@gmail.com	3160436707	[Firma]
12	Elver Arevalo B.	CAR. DIA	arevalobcencat@car.gov.co	3142474218	[Firma]
13	Hermano Rodriguez	JAC		3115373563	[Firma]

De conformidad con lo previsto en la Ley Estatutaria 1581 de 2012, "Por la cual se dictan disposiciones generales para la protección de datos personales", y con el Decreto 1477 de 2013, "Por el cual se reglamenta parcialmente la Ley 1581 de 2012", el titular presta su consentimiento para que sus datos, facilitados voluntariamente con las finalidades educativas, comerciales e informativas pasen a formar parte de una base de datos, cuyo responsable es la UNIVERSIDAD DE CIENCIAS APLICADAS Y AMBIENTALES U.D.C.A.

Puede ejercer estos derechos de acceso, corrección, actualización, restricción o retiro por infracción sobre sus datos, mediante escrito dirigido a la UNIVERSIDAD DE CIENCIAS APLICADAS Y AMBIENTALES U.D.C.A. a la dirección de correo electrónico: universidad@ucla.edu.co, indicando en el asunto, el derecho que desea ejercer, o mediante correo electrónico remitido a la dirección, calle 222 No. 55-37 de la ciudad de Bogotá D.C.



OBJETIVO GENERAL. Aunar esfuerzos para fortalecer el estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento de ejemplares adultos en cautiverio, con fines de conservación del capitán de la sabana *Eremophilus mutisii*, Humboldt, 1805.

OBJETIVO ESPECIFICO 3. Socialización y divulgación de los resultados del proyecto para contribuir al conocimiento del pez capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*)

ACTIVIDAD 3.1 Divulgación de los resultados del proyecto dirigidas a público en la cuenca alta del río Bogotá en Villa Pinzón, embalse del Neusa (río Neusa tributario del río Bogotá) y laguna de Cucunubá.

PRODUCTO 3.1.2. Una cartilla física de divulgación del proyecto con recomendaciones de manejo y alimentación de animales mantenidos en cautiverio. Total serán 150 cartillas que se repartirán en las tres zonas y en la Universidad de la U.D.C.A.

Ponderación Producto: 10%

Avance: 10 %

DICIEMBRE 2023

RESPONSABLE

Camilo Alberto Prieto Mojica

En la primera semana de diciembre se ultimaron detalles y en la tercera semana de diciembre, se realizó la entrega a la comunidad, en las 3 regiones establecidas.

A continuación se presenta el texto redactado, así como la estructura y distribución de las imágenes que se colocaron en la cartilla.

De igual manera se anexan evidencias de entrega de cartillas y planillas con información de las personas a las que se le entregaron ejemplares impresos.

EL CAPITAN DE LA SABANA
(*Eremophilus mutisii*)
EL PEZ DE ALTA MONTAÑA DEL ALTIPLANO
CUNDIBOYACENSE
GENERALIDADES PARA EL CULTIVO

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia
Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca - A.U.N.A.P
Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales - U.D.C.A.

Esta cartilla forma parte del proyecto "Fortalecimiento al estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento de reproductores con fines de conservación del Capitán de la sabana *Eremophilus mutisii* Humboldt, 1805. Convenio No.482 de 2023 U.D.C.A. - A.U.N.A.P.

Los textos pueden ser citados total o parcialmente citando la fuente.

Textos: Camilo A. Prieto Mojica, Rafael Rosado y María Doris Escobar L.

Fotografías:

Corrección de estilo: Camilo A. Prieto Mojica y María Doris Escobar L.

Diseño, diagramación e Impresión: Zorro y Serpiente Films.

FOTO 1. LAGUNA ALTOANDINA

INTRODUCCIÓN

El capitán de la sabana es la especie nativa más grande que se encuentra en el altiplano cundiboyacense. La calidad de su carne hace que tenga reconocimiento y alta aceptación por las poblaciones indígenas ancestrales hasta la actualidad, siendo que en algunos sitios, se le ha considerado un importante recurso pesquero.

Factores ligados a la contaminación de los cuerpos de agua en su distribución natural, hace que se hoy día sea calificada como una especie en vulnerable de extinción. Por lo que, resolver estos problemas requiere de la participación activa de diferentes actores, entre los que se encuentran instituciones académicas y

estamentos oficiales. Esos esfuerzos se han materializado en los últimos años, en la forma de trabajos de investigación, cuyas metas son amplias, pero todos dirigidos a lograr un nivel de conocimiento que sea la base para establecer procedimientos que permitan su manejo controlado en condiciones de cultivo.

Particular importancia tiene la producción de alevinos. Disponer de semilla de forma constante es un objetivo estratégico que favorecerá, tanto expandir su cultivo como contar con la materia prima para programas de tipo ambiental dirigidos a su protección.

La presente cartilla recopila el conjunto de principales resultados que se han logrado en esa línea. Es una descripción resumida de logros obtenidos en el curso de los últimos años,

producto del trabajo conjunto entre las entidades e instituciones que han reconocido y colocado al capitán de la sabana como especie clave para lograr objetivos de protección y aprovechamiento sostenible.

FOTO 9.

GENERALIDADES DEL CAPITÁN DE LA SABANA

En las frías aguas de quebradas y lagunas del altiplano cundiboyacense, habita un pez de piel lisa, ojos pequeños y bigotes cortos, con coloración verde oliva oscura y líneas vermiculares amarillas o blancas. Es el pez nativo de mayor tamaño de la fauna íctica altoandina. Se le conoce como Capitán de la Sabana, que desde tiempos remotos ha sido

apreciado por nuestros ancestros muiscas como una fuente importante de alimento. En 1.805 el naturalista Alexander von Humboldt lo nombró como *Eremophilus mutisii*, el primer pez de aguas dulces identificado científicamente para Colombia.

FOTO 2. CAPITÁN DE LA SABANA (QUE OCUPE MEDIA PÁGINA)

El capitán de la sabana habita en cursos y cuerpos de agua, abiertos o con vegetación flotante, emergente o sumergida, en sustratos fangosos, poco profundos y algunas veces, con bajas concentraciones de oxígeno; se le encuentra en latitudes entre 2.500 a 3.100 metros sobre el nivel del mar (msnm) y temperaturas entre 7 a 20 °C.

FOTO 10.

Es un pez territorial con una dieta variada. Consume desde minúsculas algas y restos de plantas, hasta larvas de insectos, caracoles, crustáceos y huevos de otros peces; en general, tiene preferencia hacia una dieta carnívora.

Cuando es la época de lluvias y el nivel de las aguas sube, es cuando se reproduce este pez nativo. Las hembras pueden almacenar entre 10.000 a 50.000 huevos (ovocitos) que, luego de fecundados, son depositados en las zonas inundadas donde nacen las larvas.

Los relatos históricos revelan que este pez siempre fue importante como parte de la alimentación de los pobladores muiscas. Hoy en día, en algunos sitios, como la Laguna de Fúquene

(Cundinamarca), sigue siendo importante como recurso pesquero de subsistencia.

Debido a las fuertes alteraciones del hábitat y la introducción de especies no nativas como la carpa, pez dorado y trucha, la población de esta especie nativa ha disminuido hasta el punto de que en el Libro Rojo de Peces Dulceacuícolas de Colombia, se le categorizó como una especie vulnerable a la extinción (VU).

FOTO 9. Embalse del Neusa

MANEJO EN CAUTIVERIO

Aunque varios aspectos que deben ser todavía precisados, la especie tiene características que permiten suponer que su mantenimiento en cautiverio es posible. Tolerancia bajas

concentraciones de oxígeno, lo que facilita su introducción a pequeños cuerpos de agua, no necesariamente con recambio permanente, los cuales son comunes en fincas de alta montaña. Incluso, ensayos preliminares indican que se pueden sostener en pequeños sistemas de recirculación.

Para mejorar condiciones de manejo, como se trata de un pez que habita el fondo, se acostumbra a colocar tubos o piedras en los estanques que le sirven como refugio. También se ubica vegetación acuática que ofrece condiciones de penumbra, lo que hace que se disminuya la radiación directa dentro de los tanques.

Alimento: si bien en el medio natural aprovecha diferentes recursos alimenticios, sus

preferencias son hacia una dieta carnívora. Esto hace que el alimento que se le puede ofrecer deba ser alto en proteína de origen animal. Se ha visto que acepta alimentos precocidos que contengan hígado y corazón de pollo, utilizando como aglomerante gelatina sin sabor, lo que también se combina con aceite de pescado, como atractivo, y algunas vitaminas y minerales.

Reproducción: En individuos adultos y maduros sexualmente (tallas mayores en hembras de 25 cm y machos de 20 cm), la reproducción puede ser estimulada mediante inducción hormonal con extracto de hipófisis de carpa (EPC). Se dispone ya de protocolos estandarizados y debidamente probados. Los mejores resultados se tienen con una secuencia de tres dosis, así: una 1ª. dosis en hembras, de 0,25mg de EPC/kg de peso del pez; 28 horas después la 2ª dosis

de 0,5mg/kg, y una última dosis de 5mg/kg, 12 horas después de la segunda dosis. En machos se utiliza una sola aplicación de 4mg/kg de peso, la que se coloca a la misma hora de la tercera dosis de la hembra.

Dependiendo de la temperatura del agua, entre 18 y 24 horas después de la 3ª dosis, se obtienen los huevos mediante masaje abdominal, los que presentan un color verde oliva; en este momento se procede a la fecundación.

Para que el proceso tenga éxito, se recomienda que la temperatura del agua no esté por debajo de los 10°C, ni por encima de los 18°C.

FOTO 4.0. Adultos de capitán de la sabana

FOTO 4.1 Obtención de ovocitos

FOTO 4.2. Obtención de semen.

FOTO 4.3. Almacenamiento de semen.

La fertilización se realiza mezclando el esperma y ovocitos en un recipiente, donde se adiciona agua cuidadosamente para activar los espermatozoides e hidratar los huevos. Después que son fertilizados, se llevan a incubadoras tipo bandeja, localizadas en un sistema de recirculación de agua, con un filtro biológico y temperatura controlada a 15°C.

FOTO 5. Huevos de capitán de la sabana

FOTO 6. Incubación de huevos.

Desarrollo embrionario

El proceso embrionario, a una temperatura promedio de 15°C, tiene una duración aproximada de 72 horas después de la fertilización; el desarrollo embrionario pasa por las etapas de clivaje, blástula, gástrula y organogénesis.

FOTO 7.0 a 7.4. Estados embrionarios

Larvicultura

Las larvas nacen con un tamaño promedio de 4 mm, sin desarrollo total de los ojos y sin abertura bucal y anal. Por tanto, los primeros 8 - 10 días se alimentan del material nutricional que contienen en el saco vitelino.

Las larvas pueden mantenerse en contenedores con una profundidad de 20 cm agua y una temperatura aproximada de 15°C, la que debe mantenerse estable.

Una vez el saco vitelino ha sido utilizado, se les puede alimentar con un pequeño crustáceo llamado *Artemia salina* recién eclosionada y/o en quistes. También puede usarse el gusano de la avena *Panagrellus redivivus*, cuidando que el tamaño sea del tamaño de la boca de la larva del capitán. El alimento se suministra 4 veces al día.

Es importante mantener limpio el fondo del contenedor, retirando el exceso de comida a través de una manguera por succión, cuidando que la aireación sea constante y reponiendo el agua perdida.

Alevinaje

Con este manejo, después de unos 45 días, los peces alcanzan 5 cm de longitud y alrededor de 1 g de peso. Ya en fase de alevinaje se les puede suministrar *Artemia salina*, complementado con alimento artificial comercial para peces ornamentales (360- 560 μ m) y 45% de proteína. También ya es posible alimentar solamente con alimento artificial comercial a voluntad (ofrecido cuatro veces al día).

FOTOS 8.0 Y 8.1. Alevinos de capitán

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acosta, J. A., Berruecos, B. Z., y R. Rosado. 2018. Desarrollo embrionario del capitán de la sabana, *Eremophilus mutisii* (Pisces: Trichomycteridae)," *Rev. Med. Vet.* (Bogotá). 35: 137-147.

Álvarez-León, R., Rodríguez-Forero, A., González-Acosta, J. A., Rosado-Puccini, R., Hernández-Barrero, S., ValderramaBarco, M., Pinilla, G., Lehmann P., Forero-Useche, J. E., Prada-Pedrerros S., DoNascimento, C., y J. Guerrero-Kommritz. 2012. *Eremphilus mutissi* Humboldt 1805. En: Mojica J. I., Usma J. S., Álvarez-León, R. y C. A. Lasso (Eds). 2012. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales de Colombia, WWF Colombia y Universidad de Manizales. Bogotá, D. C., Colombia. 319 p.

Flórez, F. y N. Sarmiento, 1989. Observaciones ecológicas sobre el pez capitán, *Eremophilus mutisii* Humboldt 1805 (Pisces: Trichomycteridae) en los departamentos de Cundinamarca y Boyacá, Colombia. *Acta Biológica Colombiana* 1(5): 99-115

González, J. y R. Rosado. 2010. Estado del conocimiento sobre peces nativos del altiplano cundiboyacense: revisión," *Rev. Cien. Anim*, vol. 3, pp. 69-79.

Lemus-Portillo C., Echavarría-Pedraza, M., Rojas, J., Álvarez-Díaz, J., León-Pardo, L., Aguilar-orjuela, S. y J. Maldonado. 2020. Estado de conservación y distribución del pez de agua dulce capitán de la sabana *Eremophilus mutisii* en Cundinamarca, Colombia. *Actual. Biol.* 42 (122): 1-14.

Mayorga, 1992. Biología reproductiva y alimentación de las poblaciones de Capitán de la Sabana *Eremophilus mutisii*, Humboldt 1805. (Pisces: Trichomycteridae), en la laguna de Fúquene. Trabajo de Grado. Facultad de Biología Marina. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Bogotá. Colombia.

Moncaleano-gómez, E., Sánchez, C. y C. A. Prieto. 2018. Estudio histológico y morfológico del desarrollo embrionario del pez capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*). *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica* Vol. 21 (2): 479 - 490.

Moncaleano-Gómez, E. y C. A. Prieto. 2020. Desempeño del Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisii*) en estadios tempranos de desarrollo. *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica*. Vol. 23. No.2: 1216.

Pinilla, G., Abril, M. y E. González. 2006. Growth, feeding and reproduction of the catfish *Eremophilus mutisii* (Pisces: Trichomycteridae), from artificial reservoirs in Colombia," Rev. Biol. Trop., vol. 54, no. 2, pp. 589-597.

Prieto-Mojica, C. A., Gallego-Alarcón, f. y E. G. Moncaleano. 2017. Pez capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*). Zoociencia 4 (2): 4-9. Cartilla divulgativa. Zoociencia. 4 (2): 4-9.

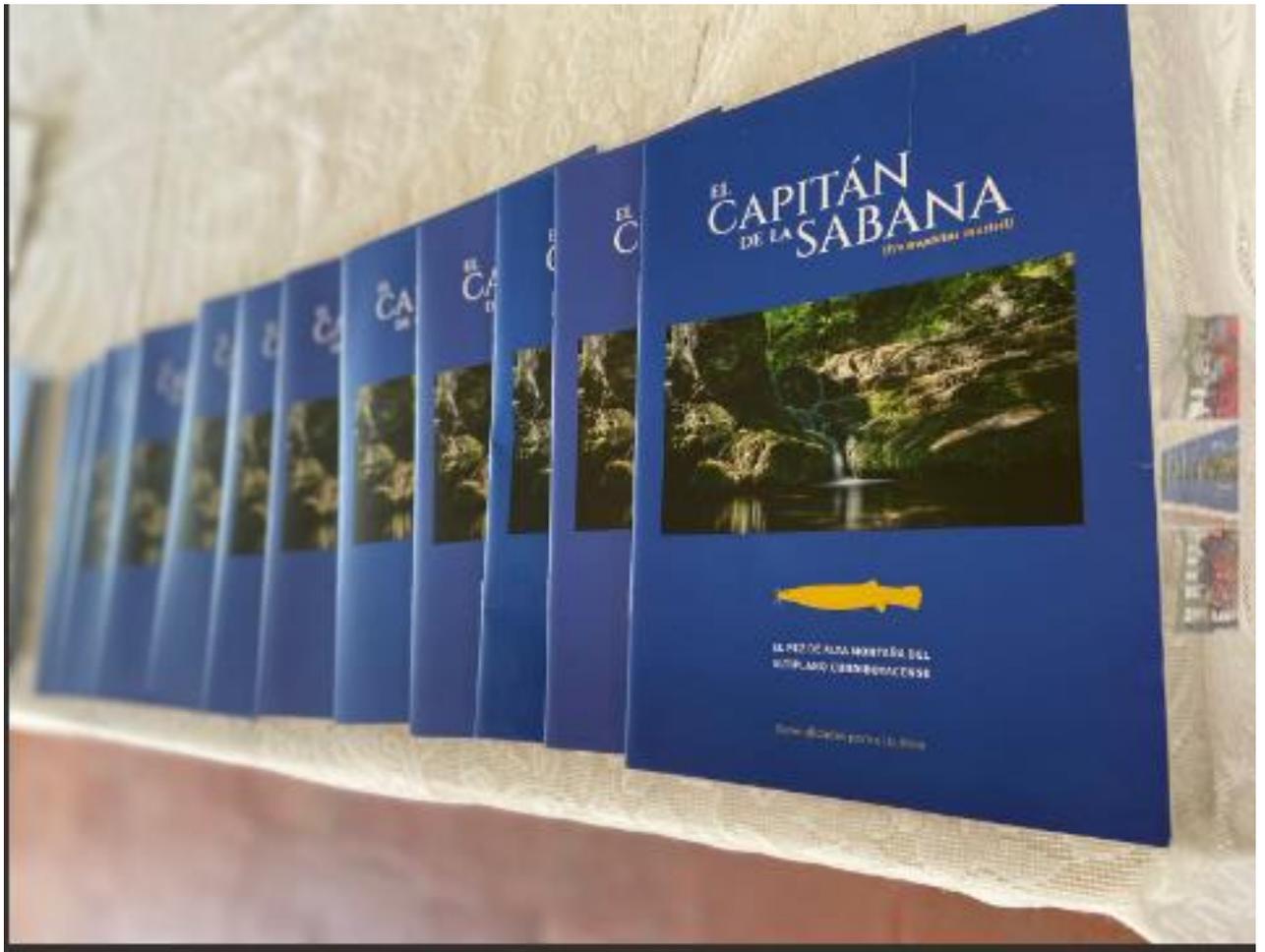
Restrepo M. C. 2019. Pez capitán de la sabana: ¿patrimonio de Bogotá? Historia de la cocina y la gastronomía.

<https://www.historiacocina.com/es/capitan>.

Valderrama-Barco, M., Garzón, A. y S. Hernández. 2007. Conservación de los peces nativos capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*) y guapucha (*Grundulus bogotensis*) en las lagunas de Fúquene, Cucunubá y Palacio. Pp.

185-197. En: Franco Vidal, L. y G. Andrade (Eds). Fúquene, Cucunubá y Palacio. Conservación de la biodiversidad y manejo sostenible de un ecosistema lagunar andino. Fundación Humedales e Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, D.C. Colombia.

FOTOGRAFIA DE LAS CARTILLAS EN FISICO



FOTOGRAFIAS DE JORNADAS DE ENTREGA DE CARTILLAS.

NEUSA Y TAUSA



FUQUENE



VILLAPINZON



PLANILLAS DE ENTREGA DE CARTILLAS EN LAS 3 REGIONES DE ESTUDIO.

DCA		Registro de Asistencia			
Actividad: Entrega de cartillas y socialización proyecto 482 de 2023 U.D.C.A Y AUNAP		FECHA: 21/ Diciembre 2023			
N°	NOMBRE	DOCUMENTO DE IDENTIDAD	TELEFONO	MUNICIPIO	FIRMA
	José Oscar Pachón R.	3307711	3172551601	Fugurene	JOS
	Ana Belén Castiblanco	21054550	3204912367	Fugurene	Ana Belén
	Juan Bautista Pachón R.	3224360	3139047877	Fugurene	Juan Pachón
	Luis Omar Rodríguez	3085031	31046077701	Fugurene	Luis Omar R.
	Flor Matilde P.	39741479	3138329058	Fugurene	Flor Matilde P.
	Elvira Pachón R.	245377	3175472478	Fugurene	Elvira P.
	José Javier Gualala	3192988	3123001616	SUSA	José Javier
	Juan Rodríguez	19162608	3114739803	Fugurene	Juan Rodríguez
	Hector J. Vilio	3025039	3134443949	Hector J. Vilio	Hector J. Vilio
	Silvina Castiblanco Pachón	79168720	3125482227	Fugurene	Silvina P.
	Dario Castiblanco	245416	3174855021	Fugurene	Dario C.
	Jairo Pachón L.	245269	3132902527	FUGURENE	Jairo Pachón
	Nelsy Pachón	21058266	3115989932	FUGURENE	Nelsy P.
	Miri Rodríguez	19061324	3114511828	FUGURENE	Miri Rodríguez
	Florencia B.	20552259	3138070464	Fugurene	Florencia B.
	Victor Albornoz	7162785	3204201623	Giménez	Victor A.
	Gloria Elsa Pachón	21056297	3118257939	El Roble	Gloria E. Pachón
	Ricardo Rodríguez	3029229	3223097506	Fugurene	Ricardo R.
	Agustín Briceño C.	245389	3142029487	Fugurene	Agustín Briceño
	Leida Castañeda	33700008	313286039	Fugurene	Leida Castañeda

DCA		Registro de Asistencia			
Actividad: Entrega de cartillas y socialización proyecto 482 de 2023 U.D.C.A Y AUNAP		FECHA: _____			
N°	NOMBRE	DOCUMENTO DE IDENTIDAD	TELEFONO	MUNICIPIO	FIRMA
	Luz Amanda G.		3115422479	Villapinzón	Luz Amanda G.
	Martín Guerra Chaves	3242486	3123453149	Villapinzón	Martín G.
	Blanca Ruiz Torres	20493529	320492532	Villapinzón	Blanca R.
	Carlos Hernando Cruz	3243214	3223230869	Villapinzón	Carlos H.
	Nelson Hernán Cruz	80466875	3153122645	Villapinzón	Nelson H.
	Diana Castellanos	7036158202	3142826027	Villapinzón	Diana C.
	Nelson Guerrero	3242941	2125572206	Villapinzón	Nelson G.
	Enly Albalá Rodríguez	1021100678	212930490	Villapinzón	Enly A.
	Blanca Cortés	2174200	975102668	VP	Blanca C.
	Olga B.	1072192219	3133128526	VP	Olga B.
	Nubia Stella Galindo	2040452	3139231509	Villapinzón	Nubia S.
	Jennifer Andrea Menéndez	1011142004	314411400	Villapinzón	Jennifer A.
	Yenny Campos	521968444	810951809	Villapinzón	Yenny C.
	Milena Vanessa Loaíza Martínez	105602499	3176974939	Villapinzón	Milena V.
	Moné Cristina Casallas	21103062	3104686294	Villapinzón	Moné C.
	Olga Rosio Heredia	1077143212	3196899504	Villapinzón	Olga R.
	Adrián Parra	21147931	3046664110		Adrián P.
	Nestor Gómez	107748675	3124862694		Nestor G.
	Luis Enrique Rodríguez	80466330	3209229184	Villapinzón	Luis E.
	Odilia López	21103879	3203889234	Villapinzón	Odilia L.

Registro de Asistencia

Actividad: Entrega de cartillas y socialización proyecto 482 de 2023
U.D.C.A Y AUNAP

FECHA: 21 DE DICIEMBRE DE 2023

N°	NOMBRE	DOCUMENTO DE IDENTIDAD	TELEFONO	MUNICIPIO	FIRMA
	José Omar Díaz	80280949	713 218 5524	Coagua	<i>[Signature]</i>
	Jairo Arvalo	3195713	312 4467632	Coagua	<i>[Signature]</i>
	Carla Cañon A.	1098246639	3133891313	Coagua	<i>[Signature]</i>
	Valentina Gomez R	100951078	3227057471	Taura	<i>[Signature]</i>
	Lorena Trujano H.	10956791375	3507105328	Coagua	<i>[Signature]</i>
	SANDRA SUSYON Zacala.	1070206749	320465680	COGUA.	<i>[Signature]</i>
	Lina Maria Peral Galvez	1070681599	3132088775	Zapangua	<i>[Signature]</i>
	Diego Fariña González	1075674942	3133932651	Tausa.	<i>[Signature]</i>
	José Enrique Gómez	2986809.	220 2207199	Coagua	<i>[Signature]</i>
	Pedro P Arias	54193040	3213816604	COGUA	<i>[Signature]</i>
	Juan David Villamil C	1076736041	3208891497	Coagua	<i>[Signature]</i>
	Andrés Ballesteros H.	1075688155	3214677463	Coagua	<i>[Signature]</i>
	Andrés Ballesteros H.	80539187	3132764767	Zapangua	<i>[Signature]</i>
	Freder GARCÓN	80542070	3132078755	COGUA	Freder

Registro de Asistencia

Actividad: Entrega de cartillas y socialización proyecto 482 de 2023
U.D.C.A Y AUNAP

FECHA: 21 DE DICIEMBRE DE 2023.

N°	NOMBRE	DOCUMENTO DE IDENTIDAD	TELEFONO	MUNICIPIO	FIRMA
	Yoly Díaz	52195867	3108829319	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Elver Arvalo	3195774	3142474298	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Diego Rodríguez	35812309	3023002278	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Yerli Brantón	3196190	3204112384	Taura	<i>[Signature]</i>
	Fanny Rodríguez	35409573	3158694138	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Marta Rodríguez	3195589	3152029050	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Marta Rodríguez	31961889	3115373563	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Maria Rodríguez	3715536240	20.985.140	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Edith Rodríguez	55414684	3156052189	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Chayanta Poin R	90985028	3163826416	Taura	<i>[Signature]</i>
	Blanca Arvalo	35418595	3108113248	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Leidy Viveros Cañon	1076058383	3164885320	Taura	<i>[Signature]</i>
	Ana Silvia Rodríguez	20985934	3188892559	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Susana Cañon Quindt	3076665743	300481332	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Alejandro Rodríguez Arvalo	100386002	324565013	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Mara Elsa Lopez	35402961	3123842069	Tausa	<i>[Signature]</i>
	Luis Gerardo Rodríguez	3267335	3113844290	Tausa	<i>[Signature]</i>



OBJETIVO GENERAL. Aunar esfuerzos para fortalecer el estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento de ejemplares adultos en cautiverio, con fines de conservación del capitán de la sabana *Eremophilus mutisii*, Humboldt, 1805.

OBJETIVO ESPECIFICO 3. Socialización y divulgación de los resultados del proyecto para contribuir al conocimiento del pez capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*)

ACTIVIDAD 3.1 Divulgación de los resultados del proyecto dirigidas a público en la cuenca alta del río Bogotá en Villa Pinzón, embalse del Neusa (río Neusa tributario del río Bogotá) y laguna de Cucunubá.

PRODUCTO 3.1.3. Un (1) vídeo sobre el conocimiento y conservación del capitán de la sabana que permitan ser divulgados en las páginas web de la U.D.C.A y la AUNAP.

Ponderación Producto: 10%

Avance: 10 %

DICIEMBRE 2023

RESPONSABLE

Camilo Alberto Prieto Mojica

En el siguiente enlace se puede observar la versión final del video.

<https://youtu.be/BMEbij31F6w>

GUION VIDEO CORTO SOBRE EL CAPITÁN DE LA SABANA

VIDEO 1: Mostrar paisajes de alta montaña, laguna y quebradas y el pez capitán de la sabana.

LOCUCIÓN 1: En el altiplano cundiboyacense habita uno de los peces más emblemáticos, conocido como el capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*), el mayor de los bagres de altamontaña. Habita a temperaturas entre 7 a 20°C, y altitudes entre 2500 a 3100 metros sobre el nivel del mar. En estas zonas la especie siempre fue apreciada por nuestros ancestros, los pobladores Muiscas, pues representaba una fuente de alimento importante para ellos. Hoy día aún es sustento para algunos pobladores cundiboyacenses.

VIDEO 2: Mostrar el capitán de la sabana preferiblemente en su medio acuático, en movimiento. Enfocar en su cabeza mostrando ojos, barbas y luego la coloración y forma del cuerpo.

LOCUCIÓN 2: El capitán de la sabana, se caracteriza por ser un pez de piel lisa, o sea, que no presenta escamas, tiene ojos pequeños y barbas cortas, su cuerpo es de color verde oliva con manchas amarillas o blancas en forma vermicular.

VIDEO 3: Mostrar una quebrada poco profunda junto con su vegetación, zonas de remanso y lodosas.

LOCUCIÓN 3: Este pez habita en las aguas frías de lagunas, quebradas y ríos, en las zonas poco profundas y con fango, pudiendo así, vivir a bajas concentraciones de oxígeno. También puede encontrarse cerca de la vegetación acuática flotante, emergente o sumergida, ya que esta se convierte en una zona de alimentación y refugio.

VIDEO 4: Mostrar video subacuático del capitán de la sabana, ojalá que sea en un estanque natural. Y si es posible mostrar algunas larvas de insectos, moluscos (caracoles), crustáceos (cangrejos), vegetación acuática.

LOCUCIÓN 4: Su comportamiento es territorialista, con hábitos alimenticios omnívoros, esto quiere decir que consume desde minúsculas algas y restos de plantas hasta con larvas de insectos, caracoles, crustáceos y huevos de otros peces.

VIDEO 5: Enfocar a una quebrada con corriente y buena cantidad de agua, luego obtener fotos de los huevos del capitán.

LOCUCIÓN 5: La época de reproducción del capitán de la sabana está relacionada con la época de lluvias y el aumento del nivel de las aguas. Una hembra puede tener entre 10.000 a 50.000 ovocitos (o comúnmente conocidos como huevos), que una vez fecundados por el macho son depositados en zonas inundadas.

VIDEO 7: Mostrar paisajes alterados, zonas con contaminación de aguas, enfocarse en una trucha y carpa de la estación, si se tienen estos ejemplares.

LOCUCIÓN 7: Debido a la contaminación de las quebradas, ríos y lagunas, la disminución de los caudales, alteración del paisaje de bosques a zonas de cultivo, y la introducción de especies como la carpa y la trucha, actualmente, el capitán de la sabana es poco abundante; lo que ha llevado a incluirlo dentro del libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia como una especie vulnerable a la extinción.

VIDEO 8. Enfocar la UDCA y la estación piscícola.

LOCUCIÓN 8. Desde hace 10 años, la UDCA viene trabajando en el desarrollo de un paquete tecnológico para la reproducción y cultivo de este emblemático pez cundiboyacense, como una alternativa para la piscicultura de alta montaña y la recuperación de la especie en su área natural.

A esta iniciativa se vinculan entidades gubernamentales como la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca -AUNAP, y la experiencia de algunos productores.

VIDEO 9. Reproducción en cautiverio

LOCUCIÓN 9. Por ello, en las instalaciones piscícolas de la U.D.C.A. y en truchas de la sierra, en Guasca, se realiza la reproducción, larvicultura y alevinaje de esta especie nativa; como un paso fundamental para la recuperación de su población.

VIDEO 10.

LOCUCIÓN 10. El fruto de este trabajo se verá reflejado futuramente en la transferencia de tecnología a nuestros campesinos cundiboyacenses, para que cultiven al capitán de la sabana y rescaten sus tradiciones culinarias. Así como también promover el repoblamiento en nuestras quebradas, lagunas y ríos para la recuperación de su población natural.



OBJETIVO GENERAL. Aunar esfuerzos para fortalecer el estudio de la estructura genética poblacional y mantenimiento de ejemplares adultos en cautiverio, con fines de conservación del capitán de la sabana *Eremophilus mutisii*, Humboldt, 1805.

OBJETIVO ESPECIFICO 3. Socialización y divulgación de los resultados del proyecto para contribuir al conocimiento del pez capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*)

ACTIVIDAD 3.1 Divulgación de los resultados del proyecto dirigidas a público en la cuenca alta del río Bogotá en Villa Pinzón, embalse del Neusa (río Neusa tributario del río Bogotá) y laguna de Cucunubá.

PRODUCTO 3.1.3. Un (1) vídeo sobre el conocimiento y conservación del capitán de la sabana que permitan ser divulgados en las páginas web de la U.D.C.A y la AUNAP.

Ponderación Producto: 10%

Avance: 10 %

DICIEMBRE 2023

RESPONSABLE

Camilo Alberto Prieto Mojica

En el siguiente enlace se puede observar la versión final del video.

<https://youtu.be/BMEbij31F6w>

GUION VIDEO CORTO SOBRE EL CAPITÁN DE LA SABANA

VIDEO 1: Mostrar paisajes de alta montaña, laguna y quebradas y el pez capitán de la sabana.

LOCUCIÓN 1: En el altiplano cundiboyacense habita uno de los peces más emblemáticos, conocido como el capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*), el mayor de los bagres de altamontaña. Habita a temperaturas entre 7 a 20°C, y altitudes entre 2500 a 3100 metros sobre el nivel del mar. En estas zonas la especie siempre fue apreciada por nuestros ancestros, los pobladores Muiscas, pues representaba una fuente de alimento importante para ellos. Hoy día aún es sustento para algunos pobladores cundiboyacenses.

VIDEO 2: Mostrar el capitán de la sabana preferiblemente en su medio acuático, en movimiento. Enfocar en su cabeza mostrando ojos, barbas y luego la coloración y forma del cuerpo.

LOCUCIÓN 2: El capitán de la sabana, se caracteriza por ser un pez de piel lisa, o sea, que no presenta escamas, tiene ojos pequeños y barbas cortas, su cuerpo es de color verde oliva con manchas amarillas o blancas en forma vermicular.

VIDEO 3: Mostrar una quebrada poco profunda junto con su vegetación, zonas de remanso y lodosas.

LOCUCIÓN 3: Este pez habita en las aguas frías de lagunas, quebradas y ríos, en las zonas poco profundas y con fango, pudiendo así, vivir a bajas concentraciones de oxígeno. También puede encontrarse cerca de la vegetación acuática flotante, emergente o sumergida, ya que esta se convierte en una zona de alimentación y refugio.

VIDEO 4: Mostrar video subacuático del capitán de la sabana, ojalá que sea en un estanque natural. Y si es posible mostrar algunas larvas de insectos, moluscos (caracoles), crustáceos (cangrejos), vegetación acuática.

LOCUCIÓN 4: Su comportamiento es territorialista, con hábitos alimenticios omnívoros, esto quiere decir que consume desde minúsculas algas y restos de plantas hasta con larvas de insectos, caracoles, crustáceos y huevos de otros peces.

VIDEO 5: Enfocar a una quebrada con corriente y buena cantidad de agua, luego obtener fotos de los huevos del capitán.

LOCUCIÓN 5: La época de reproducción del capitán de la sabana está relacionada con la época de lluvias y el aumento del nivel de las aguas. Una hembra puede tener entre 10.000 a 50.000 ovocitos (o comúnmente conocidos como huevos), que una vez fecundados por el macho son depositados en zonas inundadas.

VIDEO 7: Mostrar paisajes alterados, zonas con contaminación de aguas, enfocarse en una trucha y carpa de la estación, si se tienen estos ejemplares.

LOCUCIÓN 7: Debido a la contaminación de las quebradas, ríos y lagunas, la disminución de los caudales, alteración del paisaje de bosques a zonas de cultivo, y la introducción de especies como la carpa y la trucha, actualmente, el capitán de la sabana es poco abundante; lo que ha llevado a incluirlo dentro del libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia como una especie vulnerable a la extinción.

VIDEO 8. Enfocar la UDCA y la estación piscícola.

LOCUCIÓN 8. Desde hace 10 años, la UDCA viene trabajando en el desarrollo de un paquete tecnológico para la reproducción y cultivo de este emblemático pez cundiboyacense, como una alternativa para la piscicultura de alta montaña y la recuperación de la especie en su área natural.

A esta iniciativa se vinculan entidades gubernamentales como la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca -AUNAP, y la experiencia de algunos productores.

VIDEO 9. Reproducción en cautiverio

LOCUCIÓN 9. Por ello, en las instalaciones piscícolas de la U.D.C.A. y en truchas de la sierra, en Guasca, se realiza la reproducción, larvicultura y alevinaje de esta especie nativa; como un paso fundamental para la recuperación de su población.

VIDEO 10.

LOCUCIÓN 10. El fruto de este trabajo se verá reflejado futuramente en la transferencia de tecnología a nuestros campesinos cundiboyacenses, para que cultiven al capitán de la sabana y rescaten sus tradiciones culinarias. Así como también promover el repoblamiento en nuestras quebradas, lagunas y ríos para la recuperación de su población natural.