UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Herramientas para la valoración del bienestar animal de la raya de río *Potamotrygon magdalenae*, en cautiverio

Tools for assessing animal welfare of the freshwater stingray, *Potamotrygon magdalenae*, in captivity

Jose Gabriel Pérez Rojas

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Departamento de Producción Animal

Medellín, Colombia

2019

Herramientas para la valoración del bienestar animal de la raya de río *Potamotrygon magdalenae*, en cautiverio

Jose Gabriel Pérez Rojas

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias Agrarias

Directora

MVZ Ph.D. Sandra Clemencia Pardo Carrasco

Profesora asociada, Departamento de Producción Animal

Facultad de Ciencias Agrarias

Codirectores:

Biol. Ph.D. Paola Andrea Mejía Falla

Biol. Ph.D. Andrea Felipe Navia

Fundación SQUALUS

Zoot. Ph.D. Ariel Marcel Tarazona Morales

Profesor asociado, Departamento de Producción Animal

Facultad de Ciencias Agrarias

Línea de Investigación

Producción animal y medio ambiente

Grupo de Investigación

BIOGEM

Universidad Nacional de Colombia

Facultad Ciencias Agrarias

Departamento de Producción Animal

Medellín, Colombia

2019

A Jose Iván, Alba Luz y Francisco José

A Sandra, Paola, Ariel y Andrés

Agradecimientos

A mis padres infinitas gracias por hacer posible el sueño de trabajar con lo que me apasiona por encima de las dificultades que eso puede traer, por nunca dejarme caer y estar siempre para mí. Gracias por financiar este trabajo y creer en mí y en mis proyectos.

A Sandra, Paola, Ariel y Andrés, gracias por ser directores, maestros, tutores, financiadores y ejemplo. Nada de esto hubiera sido posible sin la confianza que depositaron en mí. Gracias por creer y ayudarme a creer cuando las cosas parecían más difíciles. Gracias por la paciencia y la comprensión, por aprender conmigo y por no dejarme solo en ningún momento, ha sido un honor transitar este camino guiado por un grupo de investigadores de la mejor calidad académica y humana.

A los investigadores de la Fundación Squalus: Maria Alejandra Orozco, Daniela Gómez Martinez, Katherine Torres, Diego Amariles. Gracias por estar siempre dispuestos a ayudar, por siempre brindarme una sonrisa cuando los necesité. Por las horas pasadas frente a una pantalla viendo animales quietos, por la disposición para construir y aprender juntos de temas fuera de lo común.

Gracias a mis compañeros y amigos de LAMA, que me vieron llegar con peces extraños y con el tiempo se dejaron contagiar del cariño por estos animales: Sara Cristina Chaverra, Jesed Gutierrez, Hernan Alzate, Jose Jaime García, Nelly Velasco. Agradezco a todos los estudiantes que pasaron por el Lama y que de una u otra forma siempre estuvieron dispuestos a colaborar con el proyecto.

Agradezco a Adelina Vélez Marín y Natalia Rincón por ser amigas, niñeras de las rayas, soporte y apoyo en todo momento. Les agradezco por abrirme las puertas de una nueva ciudad y hacerme sentir como en casa. Gracias a Daniela Londoño, Esteban Gil, Paola Correa, Mary Choperena , Karen Yepes y demás amigos que estuvieron en todo el camino, que se dejaron seducir por historias de tiburones y rayas, que me enseñaron tantas lecciones y compartieron conmigo en las buenas y en las malas. A todas las demás personas que hicieron parte de todo este proceso, gracias. Porque de cada una aprendí y me llevo algo.

Agradezco a Juan José, el otro hermano que la vida me regaló, mi compañero de viaje durante este ciclo. Desde Machu Picchu hasta Medellín, GRACIAS: “There is no pain you are receding, a distant ship's smoke on the horizon”.

Resumen

Las evaluaciones de bienestar animal, dentro de las cuales se involucran aspectos físicos, fisiológicos y etológicos, son una herramienta útil para determinar la capacidad de adaptación que tienen las especies al confinamiento. Sin embargo, y a pesar del endemismo y del alto interés ornamental de la raya de rio *Potamotrygon magdalenae*, a la fecha no existen protocolos de manejo y reproducción ex situ que favorezcan su calidad de vida y garanticen su supervivencia en ambientes confinados. Por ello, este trabajo tuvo como objetivo caracterizar los aspectos del bienestar animal de la raya de río *Potamotrygon magdalenae*, y aportar a la reducción de su mortalidad en cautiverio. Para tal fin se realizó la evaluación del factor de condición corporal (K), la caracterización de constantes y química sanguínea y la descripción y análisis del comportamiento de la especie. Los protocolos de manejo de la especie usados durante el estudio fueron adecuados para alcanzar una buena calidad de vida de los animales, inclusive lográndose la reproducción de la especie en cautiverio por primera vez en Colombia. Se confirmó que el factor de condición es una variable sencilla y útil en el monitoreo de la condición y estado nutricional de estos animales. La caracterización hematológica de *P. magdalenae* permitió confirmar la ausencia de diferencias entre sexos en cuadros hemáticos y variables de química sanguínea, característica común para otras rayas de agua dulce. A partir de la observación remota, metodología que probó ser altamente útil en la recolección de información etológica, se estableció que los machos son más activos que las hembras y presentan mayor frecuencia en comportamientos que involucran interacción y exploración, mientras las hembras permanecen más tiempo en reposo. Por último, se estableció la utilidad que pueden tener las evaluaciones holísticas en el monitoreo y mejoramiento de la calidad de vida de *P. magdalenae* en ambientes de confinamiento al identificar de forma más precisa los requerimientos específicos de esta especie y de esta forma disminuir la alta mortalidad observada en cautiverio. Por tanto, los resultados obtenidos en este estudio constituyen el punto de partida para el desarrollo e implementación de nueva investigación en el campo del bienestar animal de rayas de agua dulce en cautiverio.

Palabras claves: Cuadro hemático, etograma, factor de condición corporal, mortalidad en cautiverio, *Potamotrygon*

Abstract

Animal welfare assessments, which involve physical, physiological and ethological aspects, are a useful tool to establish the species ability to adapt to confinement. However, despite the endemism and the high ornamental interest of the freshwater stingray *Potamotrygon magdalenae*, to date there are no *ex situ* management and husbandry protocols that enhance their life quality and guarantee their survival in confined environments. Therefore, this research aimed to characterize the aspects of animal welfare of the freshwater stingray *Potamotrygon magdalenae*, and contribute to the reduction of mortality in captivity. For this purpose, the assessment of the body condition factor (K), the characterization of blood constants chemistry values and the description and analysis of the behavior of the species were carried out. The management protocols of the species used during the study were adequate to achieve a good life quality of the animals, including achieving the captive breeding of the species for the first time in Colombia. It was confirmed that the condition factor is a simple and useful variable in the monitoring of the condition and nutritional status of these animals. Hematological characterization of *P. magdalenae* confirmed the absence of differences between sexes in blood and blood chemistry variables, a common characteristic for other freshwater stingrays. From remote observation, a methodology that proved to be highly useful in the collection of ethological information, it was established that males are more active than females and present more frequency in behaviors that involve interaction and exploration, while females stay longer in repose. Finally, the utility that holistic assessments can have in monitoring and improving the quality of life of *P. magdalenae* in confinement environments was establiched by identifying the specific requirements of this species and thus reducing the high mortality observed in captivity. Therefore, the results obtained in this study constitute the starting point for the development and implementation of new research in the field of animal welfare of freshwater stingrays in captivity.

Keywords: Blood count, body condition factor, ethogram, mortality in captivity, *Potamotrygon*

Contenido

Resumen……IX

Abstract……..X

Lista de figuras……...XII

Lista de tablas……XIII

Introducción……...1

Referencias……4

1. Capítulo 1: Factor de condición corporal de la raya de río *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio……..6

1.1. Resumen……6

1.2. Introducción……..6

1.3. Métodos……..8

1.3.1. Sistemas de cautiverio……8

1.3.2. Monitoreo y análisis de calidad de agua……10

1.3.3. Relación talla peso y tipo de crecimiento……10

1.3.4. Factor de condición corporal (K)……...11

1.3.5. Análisis estadísticos……...11

1.4. Resultados……12

1.4.1. Caracterización físico química del agua en los sistemas de cautiverio……...12

1.4.2. Relación talla peso y tipo de crecimiento……13

1.4.3. Factor de condición corporal (K)……...13

1.5. Discusión……...15

1.6. Referencias……20

2. Capítulo 2: Caracterización hematológica de la raya de río *Potamotrygon magdalenae* en condiciones de cautiverio……..……26

2.1. Resumen……..26

2.2. Introducción……26

2.3. Métodos……28

2.3.1. Sistema de estudio……28

2.3.2. Manejo de los animales y colecta de sangre……...29

2.3.3. Análisis sanguíneos……29

- Cuadro hemático……29
- Química sanguínea……30

2.3.4. Análisis estadísticos……...30

2.4. Resultados……30

2.5. Discusión……34

2.6. Referencias……38

3. Capítulo 3: Descripción y análisis del comportamiento de la raya de río *Potamotrygon magdalenae* en condiciones de cautiverio……42

3.1. Resumen……..42

3.2. Introducción……...43

3.3. Métodos……45

3.3.1. Animales experimentales……..45

3.3.2. Sistema experimental……45

3.3.3. Método de evaluación……47

- Determinación de pautas de comportamiento……47
- Método de muestreo y registro……..47

3.3.4. Análisis de datos…..……47

3.4. Resultados……..48

3.4.1. Etograma de *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio……...……48

- Comportamientos incluidos en los análisis de comportamiento…….……..49
- Comportamiento con función poco aparente……...51
- Comportamientos excluidos del análisis……..51

3.4.2. Frecuencia y proporción de tiempo destinado a los comportamientos en *Potamotrygon magdalenae* ……...52

3.5. Discusión…..……58

3.6. Referencias…….63

4. Conclusiones y recomendaciones……69

4.1. Conclusiones……..69

4.2. Recomendaciones……72

A. Anexo: Resúmenes de trabajos presentados en eventos científicos……...74

B. Anexo: Premios obtenidos en eventos científicos……80

C. Anexo: Notas periodísticas publicadas……81

Lista de figuras

Capítulo 1

Figura 1. Relación entre el peso total (W) y el ancho del disco (AD) de *Potamotrygon magdalenae*……13

Figura 2. Factor de condición (K) de machos y hembras de *Potamotrygon magdalenae* en cuatro fases de cautiverio. Los cuadros representan la mediana, las cajas los percentiles (25-75%) y los bigotes los valores máximos y mínimos. Letras diferentes indican diferencias significativas (Kruskal-Wallis $p < 0.05$) entre fases, al interior de cada sexo. Diferencias significativas (U Mann-Whitney $p < 0.05$) entre sexos, al interior de cada fase, se representa con *……14

Figura 3. Factor de condición de *Potamotrygon magdalenae* en tres sistemas de cautiverio. Los puntos representan la mediana, las cajas los percentiles (25-75%) y los bigotes los valores máximos y mínimos. Letras diferentes indican diferencias significativas (Kruskal-Wallis $p < 0.05$) entre sistemas, al interior de cada sexo. Diferencias significativas (U Mann-Whitney $p < 0.05$) entre sexos, al interior de cada sistema, se representa con *……15

Capítulo 2

Figura 1. Células sanguíneas de *Potamotrygon magdalenae* (100x). I: Heterófilo (H). II: Eosinófilo (Eo). III: Linfocitos (L). IV: Monocito (M). V: Trombocitos (T) y eritrocitos (E)……31

Capítulo 3

Figura 1. Sistema de recirculación de agua diseñado y construido como hábitat de *Potamotrygon magdalenae* en el Laboratorio de Modelación Animal, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín……..46

Figura 2. Sistema de observación en tiempo real. a-b: Cámaras IP HD para observación remota. c: Detalle del software Vstarcam para observación de comportamientos de *Potamotrygon magdalenae*……...46

Figura 3. Modelo de las categorías de comportamiento para *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio……48

Figura 4. Etograma general de *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio. a) Frecuencia de expresión de los comportamientos. b) Proporción de tiempo para los comportamientos de los machos. c) Proporción de tiempo para los comportamientos de las hembras. Comportamientos: R: Reposo; Ri: Reposo con interacción; E: Exploración; Ei: Exploración con interacción; ML: Movimiento lento; MLi: Movimiento lento con interacción; MT: Movimiento de traslado; MTi: Movimiento de traslado con interacción; P: Persecución; SA: Sobreposición activa; SR: Sobreposición en reposo; D+: Desplazante; D-: Desplazado; A: Alimentación; Ai: Alimentación con interacción……..53

Figura 5. Etograma de machos de *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio en días con y sin alimento. a) Frecuencia de expresión de los comportamientos en días con y sin alimento. b) Proporción de tiempo para los comportamientos en días sin alimento. c) Proporción de tiempo para los comportamientos en días con alimento. Comportamientos: R: Reposo; Ri: Reposo con interacción; E: Exploración; Ei: Exploración con interacción; ML: Movimiento lento; MLi: Movimiento lento con interacción; MT: Movimiento de traslado; MTi: Movimiento de traslado con interacción; P: Persecución; SA: Sobreposición activa; SR: Sobreposición en reposo; D+: Desplazante; D-: Desplazado; A: Alimentación; Ai: Alimentación con interacción……..54

Figura 6. Etograma de hembras de *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio en días con y sin alimento. a) Frecuencia de expresión de los comportamientos en días con y sin alimento. b) Proporción de tiempo para los comportamientos en días sin alimento. c) Proporción de tiempo para los comportamientos en días con alimento. Comportamientos: R: Reposo; Ri: Reposo con interacción; E: Exploración; Ei: Exploración con interacción; ML: Movimiento lento; MLi: Movimiento lento con interacción; MT: Movimiento de traslado; MTi: Movimiento de traslado con interacción; P: Persecución; SA: Sobreposición activa; SR: Sobreposición en reposo; D+: Desplazante; D-: Desplazado; A: Alimentación; Ai: Alimentación con interacción……..56

Figura 7. Etograma de machos de *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio en diferentes períodos de tiempo. a) Frecuencia de expresión de los comportamientos en tres períodos del día. b) Proporción de tiempo para los comportamientos entre las 8:00 y las 10:00. c) Proporción de tiempo para los comportamientos entre las 12:00 y las 14:00. d) Proporción de tiempo para los

comportamientos entre las 16:00 y las 18:00. Comportamientos: R: Reposo; Ri: Reposo con interacción; E: Exploración; Ei: Exploración con interacción; ML: Movimiento lento; MLi: Movimiento lento con interacción; MT: Movimiento de traslado; MTi: Movimiento de traslado con interacción; P: Persecución; SA: Sobreposición activa; SR: Sobreposición en reposo; D+: Desplazante; D-: Desplazado; A: Alimentación; Ai: Alimentación con interacción……..57

Figura 8. Etograma de hembras de *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio en diferentes períodos de tiempo. a) Frecuencia de expresión de los comportamientos en tres períodos del día. b) Proporción de tiempo para los comportamientos entre las 8:00 y las 10:00. c) Proporción de tiempo para los comportamientos entre las 12:00 y las 14:00. d) Proporción de tiempo para los comportamientos entre las 16:00 y las 18:00. Comportamientos: R: Reposo; Ri: Reposo con interacción; E: Exploración; Ei: Exploración con interacción; ML: Movimiento lento; MLi: Movimiento lento con interacción; MT: Movimiento de traslado; MTi: Movimiento de traslado con interacción; P: Persecución; SA: Sobreposición activa; SR: Sobreposición en reposo; D+: Desplazante; D-: Desplazado; A: Alimentación; Ai: Alimentación con interacción……..59

Lista de tablas

Capítulo 1

Tabla 1. Parámetros físico-químicos de la calidad de agua en los sistemas y fases de cautiverio donde se mantuvieron los animales entre 2013 y 2017. Los valores se expresan como el promedio de las mediciones ± la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas……..12

Tabla 2. Comparación del coeficiente de isometría (b) de la relación talla-peso de rayas de agua dulce……18

Capítulo 2

Tabla 1. Valores de los parámetros evaluados para hembras y machos de *Potamotrygon magdalenae*, incluyendo variables físicas (talla, peso), eritograma (serie roja), leucograma y trombograma (serie blanca) y química sanguínea. SD = desviación estándar. Letras diferentes resaltadas indican diferencias significativas entre sexos para la prueba U de Mann-Whitney. $n_{hembras}$ = 6, n_{machos} = 4. Se muestran los valores promedio y la SD para fines comparativos (ver discusión)……...32

Introducción

En los últimos 20 años la demanda de elasmobranquios capaces de vivir en cautiverio ha aumentado considerablemente, bien sea por interés ornamental o por la implementación de programas para su reproducción en cautiverio y posterior uso en estrategias de conservación (Ross, 2004). Dentro de este creciente interés, se destacan las rayas de agua dulce de la familia Potamotrygonidae, endémicas de América del Sur, las cuales han sido ampliamente comercializadas con fines ornamentales (Charvet-Almeida *et al.*, 2011).

En Colombia, el comercio de rayas como especies ornamentales se incrementó de manera significativa desde 1993 a 2008, pasando de 22.343 a 60.000 animales exportados por año (Mejía-Falla *et al.,* 2009; Lasso *et al.*, 2013). A partir de 2009 se estableció, como medida de manejo, una cuota anual de exportación de 23.000 ejemplares, incluyendo las ocho especies consideradas como aprovechables comercialmente en Colombia (Lasso *et al.* 2013), siendo la raya motoro (*Potamotrygon motoro*), la raya Barranquilla (*Potamotrygon magdalenae*) y la raya guacamaya (*Potamotrygon schroederi*) las especies más apetecidas dentro de este mercado de ornamentales. A pesar de su elevada importancia ornamental, no existe una cifra económica específica para la comercialización de rayas de agua dulce. Esto se debe a que hacen parte de un mercado mucho más amplio y que incluye un importante número de especies, las cuales son exportadas en una sola categoría denominada “peces ornamentales” y la cual alcanzó un valor de USD 7.6 millones en 2012 (Legiscomex, 2013).

La cadena de comercialización de rayas de agua dulce se basa en la extracción, por pesca artesanal, de los individuos directamente en sus hábitats naturales (Lasso *et al.*, 2013), e incluye tres eslabones: centros de acopio, distribuidores nacionales e internacionales y tiendas de mascotas (Mejía-Falla *et al.*, 2009). Durante estas etapas, los individuos están expuestos a parámetros físicos y químicos diferentes a los presentes en sus ambientes naturales, generando estrés. Estos cambios podrían llegar a ser tan abruptos que en algunos casos no es posible la recuperación, ni la adaptación de los individuos una vez han llegado a su destino final (Wall, 2008).Al respecto, en la cadena comercial de rayas de agua dulce se han registrado tasas de mortalidad que oscilan entre el 20% y el 80% en algunos eslabones de la comercialización (Mejía-Falla *et al.*, 2009; Pérez-Rojas obs.pers.). En este sentido, a medida que se incrementa la longitud de la cadena comercial, los animales están sometidos a una mayor variación de las

condiciones, disminuyendo su capacidad de adaptación y en consecuencia su bienestar (Wall, 2008).

Dado que los requerimientos fisiológicos y de hábitat son especie-específicos y están ligados a las condiciones medioambientales de su lugar de origen (Harms *et al.*, 2002), se hace necesaria la evaluación del estado de salud y bienestar de cada una de las especies de rayas involucradas en el comercio ornamental, para comprender sus procesos de adaptación al cautiverio y así poder determinar el bienestar de estas en su nuevo estado de confinamiento.

El bienestar animal es una ciencia multidimensional que busca evaluar el estado de los animales en su intento por adaptarse a su entorno, entendiendo cómo responden a presiones generadas por procesos naturales ó antropogénicos, a partir de la cuantificación y análisis de variables físicas, fisiológicas y etológicas (Broom, 1986). Aunque el enfoque del bienestar animal ha sido usado ampliamente en animales de producción, principalmente mamíferos (Broom, 1991; Frasier, 2008; Council, 2009), poco a poco se ha abierto camino en otros grupos biológicos, como los peces (Huntingford & Kadri, 2008).

Evaluaciones del bienestar de peces teleósteos han encontrado alteraciones físicas, fisiológicas y de comportamiento debido a factores como el cultivo, la reproducción inducida, la captura, manipulación y transporte y la calidad de agua, entre otras (Conte, 2004; Huntingford *et al.*, 2006). En elasmobranquios, el desarrollo de estudios sobre bienestar animal es muy limitado, resaltando el trabajo de Semeniuk *et al.* (2009) quienes reportaron que el alimento suplementario provisto por actividades turísticas a una población de la raya marina *Hypanus americanus* podría alterar, a largo plazo la salud, reproducción y capacidad de supervivencia para esta población.

En rayas de agua dulce, la investigación en bienestar animal se ha realizado de manera indirecta, a partir de estudios de condición física, estudios fisiológicos y estudios de comportamiento (Brinn *et al.*, 2012; Moraes, 2012; Oliveira, 2013). Sin embargo, no se cuenta aún con trabajos que realicen una evaluación bajo el enfoque del bienestar animal, siendo esta una opción muy interesante para la evaluación holística de los animales desde los componentes físico, fisiológico y etológico.

La raya de agua dulce *Potamotrygon magdalenae* es una especie endémica de Colombia, restringida a las cuencas de los ríos Magdalena, Cauca, Atrato, Catatumbo y San Jorge (Mejía-Falla *et al.*, 2009; Caldas *et al.*, 2010). Comercialmente, se vende en tiendas de mascotas como

“raya Barranquilla” a precios que oscilan entre 6.000 y 15.000 pesos (Fundación SQUALUS, datos sin publicar). Debido a la alta presión pesquera, a su endemismo, a la presión antrópica sobre su hábitat natural y al escaso conocimiento de su biología, la especie fue catalogada como de prioridad “muy alta” en el Plan de Acción Nacional para la conservación y manejo de tiburones, rayas y quimeras (Caldas *et al.*, 2010),

En este sentido, Mejía-Falla *et al.* (2009) resaltaron la importancia de fortalecer alternativas de manejo quereduzcan la presión sobre las poblaciones silvestres y la mortalidad en cautiverio. Para ello, estos autores identificaron la reproducción en cautiverio, así como los estudios *in situ* del estado de salud de las poblaciones, como herramientas fundamentales para mejorar la conservación de la especie. Sin embargo, un paso fundamental en los programas de reproducción y manejo de animales en cautiverio es conocer los requerimientos fisiológicos y sanitarios de la especie para poder sobrevivir y adaptarse.

Dada la importancia económica y ecológica de *P. magdalenae*, su alta presión antrópica y la elevada mortalidad postcaptura, sumado al desconocimiento de su fisiología y comportamiento, entre otros, se resalta la necesidad de establecer los valores de referencia y líneas base de constantes fisiológicas, así como estudios de comportamiento en cautiverio que se puedan usar como indicadores del estado de salud y bienestar de la especie y que puedan ser implementados a lo largo de la cadena productiva con el fin de comerciar animales más sanos y mejor adaptados, logrando así reducir la mortalidad y la presión sobre las poblaciones naturales.

Con base en lo anterior, este trabajo tuvo como objetivo caracterizar las variables del bienestar animal en una población en cautiverio de la raya de río *Potamotrygon magdalenae*, a través del análisis del estado corporal (componente físico), de las constantes sanguíneas (componente fisiológico), y del comportamiento (componente etológico) de la especie en un sistema de confinamiento. Este estudio constituye la primera aproximación a la implementación del bienestar animal para la evaluación de elasmobranquios en cautiverio, usando como modelo una raya de agua dulce con alto interés ornamental.

Referencias

Brinn, R. P., Marcon, J. L., McComb, D. M., Gomes, L. C., Abreu, J. S., & Baldisseroto, B. (2012). Stress responses of the endemic freshwater cururu stingray (*Potamotrygon* cf. *histrix*) during transportation in the Amazon region of the Rio Negro. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 162(2), 139-145.

Broom, D. M. (1986). Indicators of poor welfare. British veterinary journal, 142(6), 524-526.

Broom, D. M. (1991). Animal welfare: concepts and measurement. Journal of animal science, 69(10), 4167-4175.

Caldas, J.P., E. Castro-González, V. Puentes, M. Rueda, C. Lasso, L.O. Duarte, M. Grijalba-Bendeck, F. Gómez, A.F. Navia, P.A. Mejía-Falla, S. Bessudo, M.C. Diazgranados y L.A. Zapata (Eds.). (2010). Plan de Acción Nacional para la Conservación y Manejo de Tiburones, Rayas y Quimeras de Colombia (PAN Tiburones-Colombia). Instituto Colombiano Agropecuario, Secretaría Agricultura y Pesca San Andrés Isla, Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, Instituto Alexander Ven Humboldt, Universidad del Magdalena, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Pontificia Universidad Javeriana, Fundación SQUALUS, Fundación Malpelo y otros Ecosistemas Marinos, Conservación Internacional, WWF Colombia. Editorial Produmedios, Bogotá. 60p.

Charvet-Almeida, P., M.L. Goes, R.S. Rosa y G. Rincón. (2011). Las rayas de agua dulce neotropicales: la diversidad y el estado de conservación. [Activo marzo 2019]. Disponible en:http://potamotrygon.foroactivo.net/t8-las-rayas-de-agua-dulce-neotropicales-la-diversidad-y-estado-de-conservacion.

Conte, F. S. 2004. Stress and the welfare of cultured fish. Applied Animal Behavior Science, 86(3), 205-223.

Council, F. A. W. (2009). Farm animal welfare in Great Britain: Past, present and future. Farm Animal Welfare Council.

Fraser, D. (2008). Understanding animal welfare. Acta Veterinaria Scandinavica, 50(1).

Harms, C.; Ross, T.; Segars, A. (2002). Plasma biochemistry reference values of wild bonnethead sharks*, Sphyna tiburo*. Veterinary Clinical Pathology Santa Barbara, v. 31, n. 3, p. 111-115.

Huntingford, F. A., Adams, C., Braithwaite, V. A., Kadri, S., Pottinger, T. G., Sandøe, P., & Turnbull, J. F. (2006). Current issues in fish welfare. Journal of Fish Biology, 68(2), 332-372.

Huntingford F.A. & S. Kadri. (2008). Welfare and fish. En: Branson, E.J (ed). 2008. Fish welfare. Fish Veterinary Society, Blackwell Publishing. Oxford, Reino Unido. p. 195-201.

Lasso, C.A., R.S. Rosa, P. Sánchez-Duarte, M.A. Morales.Betancourt y E. Agudelo-Córdoba (Eds). (2013). IX. Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte I. Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Brasil, Guyana, Surinam y Guayana Francesa: diversidad, bioecología, uso y conservación. Serie Editorial Recursos Hidrobiológios y Pesqueros Continentales de Colombia. Instituto de Investigación de los Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). Bogotá, D.C., Colombia. 368 pp.

Legiscomex. (2013). Estudio de mercado sobre peces ornamentales: Caracterización del sector. Legiscomex. 4 pp.

Mejía-Falla, P.A., V. Ramírez-Luna, J.S. Usma, L.A. Muñoz-Osorio, J.A. Maldonado-Ocampo, A.I. Sanabria y J.C. Alonso. (2009). Estado del conocimiento de las rayas dulceacuícolas de Colombia. Cap. V, págs. 195-245. En: Puentes, V., A.F. Navia., P.A. Mejía-Falla, J.P. Caldas, M.C. Diazgranados y L.A. Zapata-Padilla (Eds). 2009. Avance en el conocimiento de tiburones, rayas y quimeras de Colombia. Fundación SQUALUS, Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, Instituto Colombiano Agropecuario, COLCIENCIAS, Conservación Internacional, WWF Colombia, 245p.

Moraes, F. B. (2012). Variáveis hematológicas, hormonais, bioquímicas séricas e fauna parasitária em quatro espécies de raias do gênero Potamotrygon, Garman, 1877 (Myliobatiformes, Potamotrygonidae) de vida libre. Tesis de doctorado, Universidade Estadual Paulista “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, Faculdade de Ciências Agrárias E Veterinárias Campus De Jaboticabal, 63 pp.

Oliveira A.T. (2013). Parâmetros hematológicos, aspectos citoquímicos e ultraestruturais das células sanguíneas de três espécies de arraias (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) do Arquipélago de Mariuá, Amazonas, Brasil. Tesis de doctorado. UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS, Instituto de ciências biológicas programa de pós-graduação em diversidade biológica. 203 pp.

Ross, R. (2004). Chapter 31: Husbandry of freshwater stingrays of the family Potamotrygonidae. En: Smith, M.D., D. Warmolts, D. Thoney and R. Hueter (Eds). 2004. The elasmobranch husbandry manual: Captive care of sharks, rays and their relatives. Special publication of the Ohio Biological Survey. 589 p.

Semeniuk, C. A., Bourgeon, S., Smith, S. L., & Rothley, K. D. (2009). Hematological differences between stingrays at tourist and non-visited sites suggest physiological costs of wildlife tourism. Biological Conservation, 142(8), 1818-1829.

Wall, T. (2008). Disease and medicines- the welfare implications. En: Branson, E.J (ed). 2008. Fish welfare. Fish Veterinary Society, Blackwell Publishing. Oxford, Reino Unido. p. 195-201.

1. Capítulo 1: Factor de condición corporal de la raya de río *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio

1.1. Resumen

El factor de condición corporal (K) en peces ofrece información sobre la salud y el estado nutricional de los animales, y ha sido usado principalmente en evaluaciones de peces en ambientes silvestres o productivos, siendo pocos los estudios realizados en elasmobranquios en cautiverio. En el presente trabajo se evaluó el uso del factor de condición corporal como un parámetro útil para el análisis del bienestar físico de la raya de río *Potamotrygon magdalenae* en tres sistemas y cuatro fases de cautiverio (aclimatación, crecimiento, mantenimiento y experimentación), con diferencias en ubicación geográfica y calidad de agua. Para ello, se estableció el coeficiente de crecimiento de la especie y la condición corporal de 11 adultos, a partir de sus tallas y pesos. *P. magdalenae* presentó un crecimiento isométrico en cautiverio (b = 3.044) y tanto las hembras como los machos presentaron diferencias en la condición corporal entre la fase de aclimatación al cautiverio y el resto de ellas. No se encontraron diferencias en K entre los tres sistemas *ex situ* evaluados y entre sexos únicamente en la fase de crecimiento. Una vez aclimatados, los animales mostraron un aumento en su condición corporal hasta alcanzar la estabilidad, aun cuando se sometieron a cambios en los sistemas *ex situ*. El uso de K permitió hacer un monitoreo continuo de la condición corporal de los animales y su estado nutricional, a través de métodos poco invasivos, no letales y de fácil aplicación, facilitando el ajuste de protocolos de alimentación y manejo de las rayas. Los resultados obtenidos permitieron concluir que el factor de condición corporal es útil en el seguimiento y evaluación del bienestar para la especie estudiada y por ende, se recomienda su uso, no sólo en protocolos de monitoreo del estado físico de *P. magdalenae*, sino en general para rayas de agua dulce en cautiverio.

1.2. Introducción

La simple relación entre la longitud y el peso de los peces, es una fuente importante de información para estudios sobre la estructura de las poblaciones, cálculo de la producción y biomasa de poblaciones de peces para manejo de pesquerías y el conocimiento de la salud de las especies (Mendes *et al.,* 2004; Bonilla-Flórez *et al.*, 2017). Por tanto, es útil en el diseño de

planes de manejo, especialmente de aquellas especies cuyas abundancias naturales son reducidas (Logan *et al.,* 2018).

Esta relación ha sido ampliamente estudiada en poblaciones naturales, tanto de teleósteos (e.g. Cifuentes *et al.,* 2012), como de cartilaginosos (e.g. Yigin & Ismen, 2009; Ehemann *et al.,* 2017; de Loyola-Fernández *et al.*, 2017). A pesar de la reconocida utilidad de la estimación de los parámetros de la relación longitud-peso, este no ha sido un tema ampliamente abordado con organismos en cautiverio (Bonilla *et al.*, 2017).

El parámetro tradicional de evaluación de salud ha sido el factor de condición -K- (Dibattista *et al.*, 2007), el cual se basa en la relación entre la longitud y el peso de un individuo y refleja la robustez o la aptitud general del mismo. Este parámetro es influenciado por factores intrínsecos como el desarrollo gonadal y la presencia o ausencia de alimento en el estómago, así como por factores extrínsecos como la disponibilidad de alimento y la variabilidad ambiental (Nikolsky, 1969). Esta medida ha sido aplicada en una gran variedad de organismos tales como peces, crustáceos, moluscos y elasmobranquios para hacer un seguimiento de la salud general de las poblaciones silvestres evaluadas (Fazli *et al.* 2012; Basusta *et al.* 2013; Sarkar *et al.* 2013; Adeogun *et al.* 2016).

En poblaciones naturales, el factor de condición también es un indicador del éxito alimentario de las especies, pues en la mayoría de los casos se desconoce de qué se alimentaron, en qué momento y en qué lugar. Por tanto, individuos más hábiles en la obtención del alimento serán más pesados comparados con aquellos menos hábiles (Bolger & Connolly, 1989; Jakob *et al.,* 1996). En poblaciones confinadas o de producción este parámetro es, así mismo, un indicador indirecto del estado nutricional de los animales pues permite evaluar si animales de un mismo grupo de talla están ingiriendo la cantidad adecuada de alimento y, por lo tanto, hacer su asociación con una valoración de la contextura o estado de delgadez o gordura (Dibattista *et al.*, 2007; Cifuentes *et al.*, 2012; Beck, 2016; Bonilla-Flórez *et al.*, 2017).

Potamotrygon magdalenae es la única especie de raya de agua dulce endémica de Colombia (Lasso *et al.* 2013), se distribuye en las cuencas del rio Magdalena, Cauca y Atrato y prefiere fondos lodosos en aguas turbias y poco profundas (Galvis *et al.* 1997; Mejía-Falla *et al.*, 2016). Esta especie madura entre los 17 y 21 cm de ancho de disco, presenta una fecundidad promedio cercana a 3 crías y un evento reproductivo por año (Ramos-Socha y Grijalba-Bendeck, 2011;

Pedreros-Sierra, 2015, 2016; Mejía-Falla *et al.*, 2016). La dieta de la especie se basa en larvas de dípteros, quironómidos y efemerópteros (Ramos-Rocha, 2010; Mejía-Falla *et al.*, 2014; Márquez-Velásquez, 2017).

En cuanto al factor de condición en *P. magdalenae*, Ramos-Socha & Grijalba-Bendeck (2011) reportaron que no existe correlación entre este factor y los índices gonadosomático y hepatosomático, sugiriendo que la energía almacenada en el hígado se aporta de manera continua a los eventos reproductivos y que, a su vez, la maduración sexual no afecta el crecimiento somático de la especie.

Potamotrygon magdalenae es, junto a *Potamotrygon motoro*, las dos especies con mayor importancia comercial en el mercado ornamental de los peces en Colombia, siendo principalmente capturados animales pequeños (12-17 cm ancho de disco), para su comercialización a nivel nacional e internacional y presentando un valor de exportación promedio por año de 11.009 individuos (Lasso *et al.*, 2013). Dada la importancia ornamental de *P. magdalenae* y su alta tasa de mortalidad en la cadena comercial, la cual oscila entre 20 a 80% (Mejía-Falla *et al.*, 2009; Pérez-Rojas obs.pers), es de suma importancia generar conocimiento de línea base sobre diferentes aspectos que permitan una mejor adaptación al cautiverio y que por tanto, reduzca la presión ejercida sobre las poblaciones naturales. Así, el objetivo del presente estudio fue analizar la condición corporal de individuos de *P. magdalenae* en cautiverio, y evaluar el uso del factor de condición como una variable indicadora del bienestar animal de la especie en condiciones de cautiverio.

1.3. Métodos

1.3.1. Sistemas de cautiverio

Para el desarrollo de este estudio se utilizaron 12 rayas mantenidas entre los años 2013 a 2017 en tres sistemas de cautiverio diferentes. El factor de condición se evaluó en cada uno de los sistemas, considerando cuatro fases: 1) Aclimatación; 2) Crecimiento; 3) Mantenimiento; 4) Experimentación.

- **Sistema 1:**

Ubicado en Buga, Valle del Cauca, agrupó la fase de aclimatación (Fase 1) y crecimiento (Fase 2; Pérez-Rojas *et al.*, 2015). En estas fases el sistema de cautiverio se caracterizó por el uso de 12 animales, cinco machos (peso promedio = 112 ± 32.71 g; talla promedio = 11.6 ± 1.85 cm) y siete hembras (peso promedio = 191.43 ± 30.78 g; talla promedio = 14.3 ± 0.81 cm) capturados en la zona media de la cuenca de río Magdalena. Los animales se distribuyeron en seis acuarios de 130 cm de largo x 60 cm de ancho y 40 cm de altura, con una densidad de dos individuos/acuario y con recambios de agua una vez por semana del 75% del volumen del acuario. En cada acuario se ubicó un macho y una hembra, excepto en un acuario en donde se ubicaron dos hembras. Para el mantenimiento de la temperatura de los acuarios se utilizaron calentadores Fluval de 300 W y cada acuario contó con un filtro tipo canister para el mantenimiento de la calidad del agua. El fotoperiodo fue de 12 h luz y 12 h oscuridad y la alimentación de todos los acuarios se realizó de la misma manera, suministrando lombriz roja californiana día de por medio a razón del 10% de la biomasa del acuario a la semana (Ross, 2004).

- **Sistema 2:**

Ubicado en Medellín, Antioquia, este sistema se usó durante el mantenimiento en cautiverio (Fase 3). En este sistema, las 12 rayas del Sistema 1 se ubicaron en dos tanques de polipropileno de 250 y 500 L en una densidad de seis animales por tanque. El tanque de 250 L albergó tres machos (peso promedio = 133.3 ± 28.87 g; talla promedio = 14 ± 1 cm), y tres hembras (peso promedio = 416.67 ± 28.87 g; talla promedio = 19.33 ± 0.29 cm). El tanque de 500 L albergó dos machos (peso promedio = 185 ± 21.21 g; talla promedio = 13.75 ± 1.06 cm) y cuatro hembras (peso promedio = 362.5 ± 47.87 g; talla promedio = 17.5 ± 0.41 cm). Los tanques se mantuvieron sin sustrato y cada uno contó, con dos sistemas de filtración mecánica y biológica con caudal total de 100 L/h para garantizar el mantenimiento óptimo de la calidad de agua. La temperatura del agua se mantuvo en un promedio de 28.3°C usando calentadores FLUVAL de 300 W y se usaron motores de recirculación de agua para mantener las condiciones de oxígeno disuelto. El fotoperiodo y la alimentación se manejaron de la misma forma descrita en la fase 1.

- **Sistema 3:**

Ubicado en la Universidad Nacional de Colombia (UNAL) sede Medellín. Este sistema correspondió a la experimentación (Fase 4) y lo constituyó cuatro tanques de polipropileno de 500 L de capacidad. Con el fin de mantener la calidad de agua y el soporte de vida, se diseñaron y construyeron dos sistemas de recirculación de agua iguales, con módulos de filtración mecánica, biológica, calefacción y aireación (Pérez-Rojas *et al.,* datos sin publicar). Cada sistema se conectó a dos tanques, en los que se garantizó tanto la calidad de agua, como la temperatura (28-30°C) y la disponibilidad de oxígeno (5-7 mg/L, >60% de saturación). En este sistema habitaron 12 rayas adultas (cinco machos, seis hembras), de las cuales 11 fueron animales capturados en medio silvestre, utilizados en los sistemas 1 y 2, distribuidos así: tres tanques con dos hembras con un macho y en el tanque restante una hembra con dos machos. Uno de los machos correspondió a un individuo adulto que nació en cautiverio. Los machos presentaron un ancho de disco (AD) promedio de 15.30 cm (± 0.57 cm) y peso promedio de 276 gr (± 27.01 gr), mientras las hembras tuvieron AD promedio de 20.33 cm (±1.29 cm) y peso promedio de 533.33 gr (±75.28 gr). El fotoperiodo y la alimentación se manejaron de la misma forma descrita en la Fase 1.

1.3.2. Monitoreo y análisis de calidad de agua

Con el fin de garantizar una óptima calidad de agua en todos los sistemas evaluados y durante todas las fases de desarrollo del trabajo, se realizó un monitoreo quincenal de los principales parámetros físico químicos de calidad de agua. La temperatura (T;°C), pH, porcentaje de oxígeno disuelto (%OD), concentración de oxígeno disuelto (OD; mg/L), conductividad (µs/cm) y sólidos totales disueltos (TDS; ppm) se midieron usando una sonda multiparamétrica (YSI). La dureza (ppm) y concentración de amonio (ppm), nitritos (ppm) y nitratos (ppm) se midieron usando un kit colorimétrico para acuicultura LaMotte AQ-2. Se evaluaron diferencias en T, pH, %OD, OD, conductividad y TDS entre los tres sistemas.

1.3.3. Relación talla peso y tipo de crecimiento

Para establecer el tipo de crecimiento de *P. magdalenae*, se estimó el coeficiente de crecimiento (*b*) de la relación ancho de disco (AD, cm)-peso (W, g) de machos y hembras silvestres (n= 1008; Fundación SQUALUS, datos sin publ.) y en cautiverio (n= 11, este estudio). El valor de b fue estimado a partir de la ecuación: $W = a*AD^{b}$. El tipo de crecimiento (alométrico o isométrico) fue

evaluado a partir de una prueba t-student, usando el estadístico t calculado (t_c) de la ecuación de Pauly (1984), con α = 0.05, esto es:

$$t_c = \frac{s(\mathrm{logAD}) * [\mathrm{b} - 3] * \sqrt{n-2}}{s(\mathrm{logW}) * \sqrt{1-r^2}}$$

Donde *s*(logAD) es la desviación estándar del logaritmo del ancho de disco, *s*(logW) es la desviación estándar del logaritmo del peso, *b* es la pendiente de la recta (coeficiente de crecimiento de la relación talla-peso), r^2 es el valor de confiabilidad de la línea de tendencia de la relación talla-peso, y n es el número total de individuos. Si se acepta la hipótesis de igualdad (b = 3), el crecimiento se considera isométrico y si se rechaza (b ≠ 3) el crecimiento se considera alométrico.

1.3.4. Factor de condición corporal (K)

El tipo de crecimiento identificado determina la ecuación a utilizar en la estimación del factor de condición corporal (K). Si es isométrico, se aplica la ecuación de Fulton (Ricker, 1975) y si es alométrico se aplica la ecuación alométrica (Bolger & Connolly, 1989). Ambas ecuaciones relacionan el peso (W, g) y el ancho del disco (AD, cm) de los organismos. Esto es:

$$Ecuación\ de\ Fulton:\ K = \frac{W}{AD^3}\ x\ 10 \qquad Ecuación\ alométrica:\ K = \frac{W}{AD^b}\ x\ 10$$

1.3.5. Análisis estadísticos

Los datos de calidad de agua, así como los del factor de condición, no cumplieron con los criterios de normalidad ($p > 0.05$; Shapiro-Wilk) ni homogeneidad de varianzas ($p > 0.05$; Levene). Por tanto, diferencias en el valor de K entre machos y hembras dentro de cada una de las fases fueron evaluadas mediante una prueba U Mann-Whitney. Diferencias en los valores de K entre fases al interior de cada sexo, así como diferencias en los parámetros de calidad de agua entre fases, fueron evaluadas con una prueba Kruskal-Wallis. Todos los análisis se realizaron con un α = 0.05, usando el software R.

1.4. Resultados

1.4.1. Caracterización físico química del agua en los sistemas de cautiverio

La temperatura del agua fue similar entre los tres sistemas y fases. Por el contrario, el porcentaje (%) y concentración (mg/L) de oxígeno disuelto, así como los TDS variaron significativamente entre los tres sistemas, siendo el Sistema 1 el que presentó los valores más altos, y el Sistema 2 los valores más bajos. Por su parte, la conductividad, el pH y la dureza del agua fueron significativamente más altos en el Sistema 1 (Tabla 1). Debido al gran control que debe hacerse de amonio, nitrito y nitrato en sistemas acuáticos *ex situ*, los niveles de estas variables se controlaron y mantuvieron entre 0.25-0.50 ppm para amonio, 0 ppm para nitrito y 40-80 ppm para nitrato, y por ende no fueron incluidas dentro del análisis de calidad de agua.

Tabla 1. Parámetros físico-químicos de la calidad de agua en los sistemas y fases de cautiverio donde se mantuvieron los animales entre 2013 y 2017. Los valores se expresan como el promedio de las mediciones ± la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas.

Parámetro	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 3
Fase	1, 2	3	4
Ubicación geográfica	Buga, Valle del Cauca	Medellín, Antioquia	Medellín, Antioquia (UNAL)
Temperatura (°C)	28.61±2.05[a]	28.27±0.45[a]	28.66±0.49[a]
Oxígeno disuelto (%)	71.36±14.02[a]	47.59±2.44[b]	59.51±13.66[c]
Oxígeno disuelto (mg/L)	6.51±1.00[a]	3.71±0.18[b]	4.89±1.05[c]
Conductividad (µs/cm)	710.18±8.62[a]	95±21.38[b]	95±21.08[b]
pH	9.14±0.27[a]	7.51±0.45[b]	7.95±0.61[b]
Sólidos totales disueltos (ppm)	370±25[a]	308±52[b]	338±40[c]
Dureza (ppm)	400±20[a]	37.1±13.72[b]	33±12.83[b]

1.4.2. Relación talla-peso y tipo de crecimiento

El coeficiente de crecimiento estimado para la especie (b=3.044), no difirió significativamente de 3, determinando que el tipo de crecimiento de *P. magdalenae* fue isométrico (p= 0.058; Fig. 1).

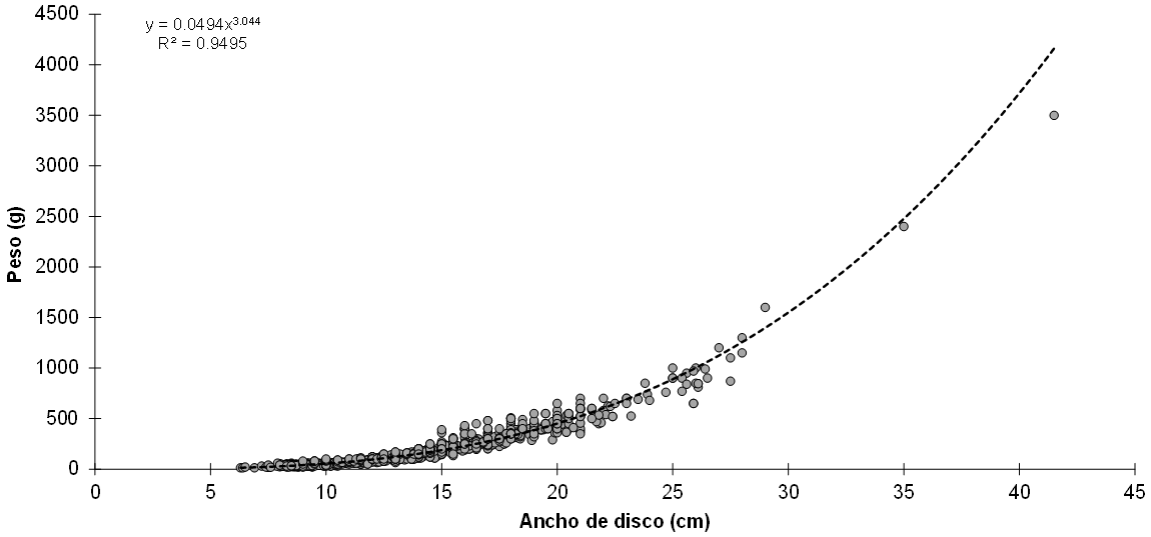


Figura 1. Relación entre el peso total (W) y el ancho del disco (AD) de *Potamotrygon magdalenae*

1.4.3. Factor de condición corporal (K)

El factor de condición, estimado con base en la ecuación de Fulton, mostró un marcado incremento entre la Fase 1 y el resto de fases analizadas, sin embargo una vez aclimatados los animales al cautiverio, se encontraron valores de mediana similares entre las fases 2, 3 y 4 (Fig. 2). En la Fase 1, correspondiente al período de aclimatación al cautiverio, los animales provenientes de vida silvestre mostraron un K entre 0.30 y 0.70 para los machos, y entre 0.39 y 0.66 para las hembras, siendo en ambos casos, significativamente más bajo que el valor de K de las otras fases (Fig. 2).

Se observó una mayor variación de los valores de K en machos, quienes presentaron el valor máximo registrado en este estudio en la Fase 2 (K= 1.0) y el valor más bajo en la Fase 1 (Fig. 2). El análisis de K entre sexos por cada fase, mostró diferencias significativas solamente en la Fase 2, donde los machos presentaron valores más altos (min, max, percentiles y mediana) que las hembras ($p < 0.05$; Fig. 2).

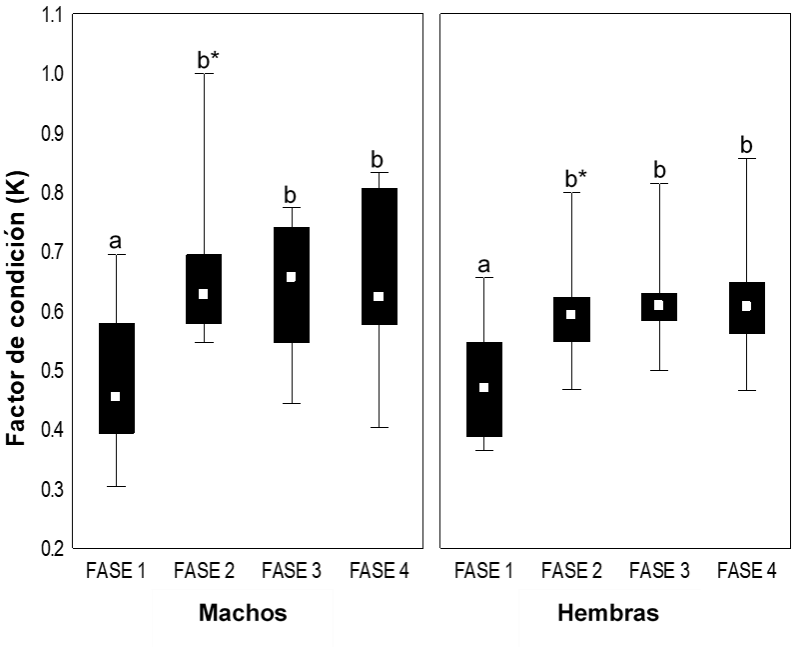


Figura 2. Factor de condición (K) de machos y hembras de *Potamotrygon magdalenae* en cuatro fases de cautiverio. Los cuadros representan la mediana, las cajas los percentiles (25-75%) y los bigotes los valores máximos y mínimos. Letras diferentes indican diferencias significativas (Kruskal-Wallis $p < 0.05$) entre fases, al interior de cada sexo. Diferencias significativas (U Mann-Whitney $p < 0.05$) entre sexos, al interior de cada fase, se representa con *.

La variación en K disminuyó para los machos entre los sistemas, siendo mayor en el Sistema 1, mientras las hembras no mostraron mayores cambios en la variación de este, observándose modificación principalmente en el valor mínimo (Fig. 3). Los valores medianos de condición corporal tuvieron un leve aumento entre los sistemas 1 y 2, con descenso leve en el Sistema 3 en los machos. Por su parte para las hembras, estos valores fueron similares entre los tres sistemas usados. No se encontraron diferencias significativas en la condición corporal entre sistemas de cautiverio en ninguno de los sexos, a partir de la prueba de Kruskal-Wallis (p machos = 0.54; p hembras = 0.06), mientras la prueba de Mann-Whitney permitió encontrar diferencias en la condición de machos y hembras únicamente en el Sistema 1 ($p = 0.007$; Fig. 3).

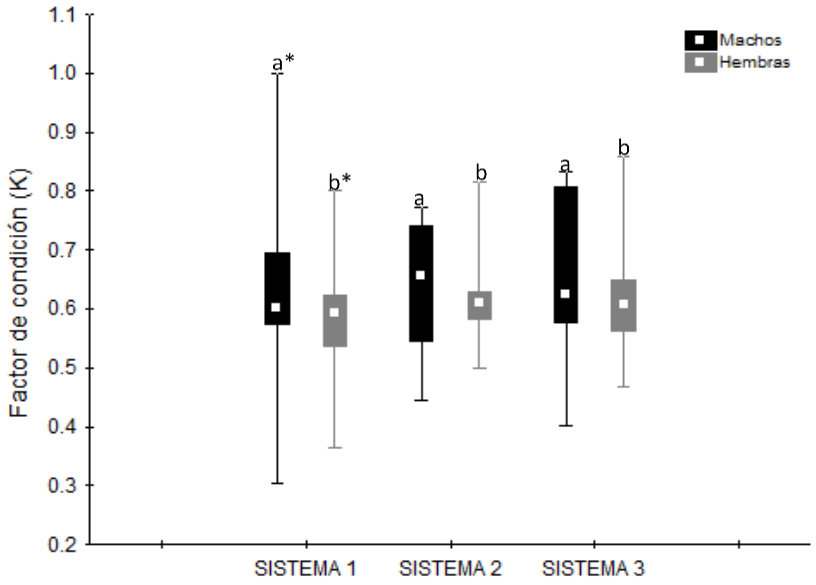


Figura 3. Factor de condición de *Potamotrygon magdalenae* en tres sistemas de cautiverio. Los puntos representan la mediana, las cajas los percentiles (25-75%) y los bigotes los valores máximos y mínimos. Letras diferentes indican diferencias significativas (Kruskal-Wallis $p < 0.05$) entre sistemas, al interior de cada sexo. Diferencias significativas (U Mann-Whitney $p < 0.05$) entre sexos, al interior de cada sistema, se representa con *.

1.5. Discusión

Los estudios disponibles sobre el tipo de crecimiento en rayas de agua dulce muestran valores parecidos entre especies, siendo el crecimiento isométrico el dominante en esta familia (Lasso *et al.*, 2013). Nuestros resultados describieron a *P. magdalenae* como una especie con crecimiento isométrico, concordando con la mayoría de rayas de agua dulce de las que se tiene información al respecto (Tabla 2), con un valor de b dentro del rango propuesto por Carlander (1969) y el cual oscila entre 2.5 y 3.5 (Froese, 2006). Para la especie de estudio, existen dos antecedentes en la estimación del crecimiento, las cuales reportaron valores de b de 2.84, 3.09 y 3.18 (Hernández- Serna *et al.,* 2013; Lasso *et al.,* 2013; Tabla 2). Teniendo en cuenta que todos estos estudios se realizaron en la misma cuenca hidrográfica, las diferencias en el valor de b podrían ser explicadas por el número de animales usados en cada investigación, la temporada en la que se realizaron los muestreos, las poblaciones objetivo del muestreo, o por la inclusión en este trabajo de datos correspondientes a rayas en cautiverio (Froese, 2006). Dado que los valores de b para rayas de agua dulce son muy similares entre ellos y cercanos al valor de

isometría, se infiere que este tipo de crecimiento sería una característica común para la familia. Sin embargo, existen unas pocas excepciones tales como los machos de *Potamotrygon orbignyi* (Colombia: b = 3.80) y los machos de *Potamotrygon schroederi* (Colombia –Venezuela: b = 0.84; Tabla 2).

La presencia de aguas más duras, con mayores sólidos disueltos, mayor pH, conductividad y oxígeno disuelto en el Sistema 1 fue dado por el origen del agua en este sistema, el cual provino de pozo subterráneo, estando influenciada por las condiciones ambientales del terreno y la concentración de minerales en el mismo (Montes de Oca, 2009). Por su parte, en los sistemas 2 y 3 el agua provenía de un acueducto municipal, pasando por tanto por procesos de tratamiento en los que disminuyen la dureza, la carga de sólidos disueltos en el agua y eliminan patógenos para hacerlas aptas para el consumo humano.

Estas diferencias en calidad de agua podrían en principio explicar las diferencias en las condiciones (valores de K) entre la Fase 1 y las demás fases. Sin embargo, dicha condición de los animales pareciera no verse afectada significativamente una vez se han aclimatado al cautiverio (esto es, una vez superada con éxito la Fase 1), así permanezcan dentro del mismo sistema *ex situ*. Esto se vio reflejado en la ausencia de diferencias significativas en los valores de K entre las fases 2, 3 y 4. Este resultado podría deberse a que *Potamotrygon magdalenae* es una especie que ocupa una gran diversidad de hábitats dentro de su distribución natural, dentro de los que se encuentran ciénagas, ríos secundarios, lagunas, entre otros, con variadas condiciones físico-químicas de calidad de agua (Mejía-Falla *et al.*, 2009; Caldas *et al.*, 2010), estando expuesta a grandes variaciones en el tipo y calidad de agua, y llevando lo anterior a que presenten una mayor tolerancia a las variaciones de los parámetros de calidad de agua. Adicionalmente, se ha documentado que parámetros de calidad de agua tales como la dureza y el pH no tienen una importancia vital para la supervivencia de las rayas de agua dulce, y estas son capaces de tolerar rangos amplios de estos parámetros siempre y cuando los cambios sean graduales y permitan la aclimatación de los animales (Ross, 2004).

Así, nuestros resultados sugieren que la especie presenta una alta tolerancia a las variaciones en los parámetros de calidad de agua, pudiendo adaptarse de manera exitosa al cautiverio, y presentando pocas variaciones en su factor de condición corporal, una vez superada la fase inicial de aclimatación de los animales al cautiverio. Sin embargo, es importante resaltar que las introducciones de animales silvestres de esta especie a sistemas de cautiverio deben realizarse

lentamente y con monitoreo constante del estado de los animales, para asegurar la supervivencia de los individuos y su acostumbramiento a las nuevas condiciones de calidad de agua, pues la tasa de mortalidad en procesos de introducción de individuos a cautiverio es alta en esta especie (Mejía-Falla *et al.*, 2016).

Las diferencias observadas en el valor de K dentro de cada sexo, entre la aclimatación (Fase 1), el crecimiento (Fase 2), el mantenimiento (Fase 3) y la experimentación (Fase 4), podrían deberse principalmente a los cambios en la dieta y hábitat que experimentaron los animales, pues durante esta fase pasaron del estado silvestre al cautiverio. Numerosos estudios sugieren que en muchas especies de peces los procesos de aclimatación a sistemas de cautiverio generan estrés, afectando su capacidad de aclimatarse y sobrevivir (Mohan & Aiken, 2004; Pottinger, 2008; Hadfield & Clayton, 2017). En rayas de agua dulce, Ross (2004) y Reynolds *et al.* (2017) documentaron pérdida de peso y disminución en su condición mientras superaron las primeras etapas de aclimatación. Específicamente para *P. magdalenae* se han planteado mortalidades cercanas al 80% en cadenas comerciales ornamentales (Mejía-Falla *et al.*, 2009), lo que la sitúa dentro de las especies de rayas de agua dulce con alta dificultad para la aclimatación a sistemas de cautiverio (Ross, 2004; Mejía-Falla *et al.*, 2016). Lo anterior fue corroborado por observaciones directas como alta dificultad para aceptar alimentos nuevos, alta influencia de patógenos del agua de origen y una posible inmunosupresión, durante la fase de aclimatación al cautiverio de especímenes silvestres.

Por todo lo anterior, se recomienda llevar los procesos de aclimatación a cautiverio de individuos silvestres de rayas de agua dulce de forma paulatina y teniendo en cuenta los requerimientos particulares de cada especie, con el fin de reducir el estrés por el cambio de hábitat (Mejía-Falla *et al.*, 2016). Para el caso particular de *P. magdalenae*, la experiencia adquirida permite sugerir acuarios con baja intensidad de luz, alimentación con alimento vivo (lombriz roja californiana), temperatura cálida del agua (28-30°C), niveles de oxígeno en el agua por encima de 4 mg/L y salinidad entre 2 y 3 ppm, como puntos importantes para cumplir los requerimientos de la especie.

Valores similares en el factor de condición entre las fases 3, 4 y 5, puede ser debido a que los animales que pasaron exitosamente la fase de aclimatación encontraron buenas condiciones de vida (dieta, hábitat, calidad de agua), lo cual les permitió continuar con su desarrollo. El aumento en el valor de K en las fases 2, 3 y 4 puede explicarse como la evidencia de una aclimatación

exitosa, a partir de la cual las rayas empezaron a consumir el alimento que se les ofertó en cautiverio y por ende aumentaron su condición corporal.

Tabla 2. Comparación del coeficiente de isometría (b) de la relación talla-peso de rayas de agua dulce.

Especie	Área	Sexo	n	b	Referencia
Potamotrygon magdalenae	Cuenca del río Magdalena y cautiverio	Combinado	1019	3.00	Este estudio
Potamotrygon magdalenae	Cuenca del río Magdalena	Combinado	31	3.10	Hernández-Serna *et al.*, 2013
Potamotrygon magdalenae	Cuenca del río Magdalena	Machos Hembras	29 18	3.18 2.84	Lasso *et al.* 2013
Paratrygon aiereba	Cuenca del río Amazonas (Colombia, Ecuador y Perú)	Machos Hembras	16 22	2.78 2.80	Lasso *et al.* 2013
Plesiotrygon iwamae	Cuenca del río Amazonas (Colombia y Perú)	Machos Hembras	9 9	2.91 2.54	Lasso *et al.* 2013
Plesiotrygon nana	Cuenca del río Amazonas (Colombia)	Combinado	7	3.14	Lasso *et al.* 2013
Potamotrygon dumerilii	Cuenca del río Amazonas (Brasil)	Machos Hembras	9 21	3.38 2.99	Lasso *et al.* 2013
Potamotrygon henlei	Cuenca del río Amazonas (Brasil)	Combinado	27	2.90	Lasso *et al.* 2013
Potamotrygon leopoldi	Cuenca del río Amazonas (Brasil)	Combinado	37	2.96	Giarrizzo *et al.*, 2015
Potamotrygon motoro	Cuenca del rio Orinoco (Colombia y Venezuela)	Machos Hembras	57 51	2.95 3.05	Lasso *et al.* 2013
Potamotrygon motoro	Cuenca del rio Amazonas (Colombia, Ecuador y Perú)	Machos Hembras	29 30	3.09 2.94	Lasso *et al.* 2013
Potamotrygon orbignyi	Cuenca del río Amazonas (Brasil)	Machos Hembras	54 48	3.33 3.15	Lasso *et al.* 2013
Potamotrygon orbignyi	Cuenca del rio Orinoco (Colombia)	Machos Hembras	29 34	3.80 NR	Lasso *et al.* 2013
Potamotrygon orbignyi	Cuenca del rio Orinoco (Venezuela)	Machos Hembras	61 64	3.24 3.32	Lasso *et al.* 2013
Potamotrygon schroederi	Orinoquia (Colombia-Venezuela)	Machos Hembras	8 30	0.84 3.23	Lasso *et al.* 2013
Potamotrygon scobina	Cuenca del río Amazonas	Hembras	9	2.89	Lasso *et al.* 2013
Potamotrygon yepezi	Cuenca del Lago de Maracaibo	Machos Hembras	20 34	2.91 2.55	Lasso *et al.* 2013

Los valores extremos encontrados en machos estuvieron relacionados con la maduración de un macho entre las fases 1 y 2, y una posible compensación de condición una vez pasada la fase de aclimatación al cautiverio. En las fases 3 y 4 se encontraron individuos con disminución en su condición corporal, coincidiendo ambas situaciones con traslados entre sistemas *ex situ* y reacomodos de ciertos individuos a nuevas condiciones de vida. Los datos extremos observados en las hembras estuvieron relacionados con los eventos reproductivos, siendo los mayores

valores registrados para hembras preñadas en las fases 1 y 3, mientras el menor valor fue para una hembra posparto en la Fase 4. Claramente, los estados de preñez y posparto influyen en la estimación de la condición corporal y en nuestro caso, dichos valores extremos coincidieron con las épocas de reproducción de este grupo poblacional.

Teniendo en cuenta que el factor de condición corporal en peces silvestres es un parámetro dependiente de factores ambientales como la época del año, el estadio ontogénico, la distribución geográfica de la población, disponibilidad de alimento, entre otros (Froese, 2006), es posible encontrar una variación intraespecífica de esta variable. Para peces en confinamiento, Huntingford y Kadri (2008) mencionan que cambios en la condición corporal de animales se pueden presentar por enfermedades o situaciones de estrés que impactan sobre la salud y bienestar de los animales.

Los resultados obtenidos en este trabajo permitieron establecer que, bajo los sistemas y protocolos usados en el mantenimiento en cautiverio de *P. magdalenae*, los animales aumentaron su condición corporal hasta observarse una tendencia a estabilizarse hacia la fase 4 (Fig. 2). Esto resulta particularmente importante no sólo porque confirma que las rayas mantenidas en cautiverio tuvieron una buena condición corporal, aun cuando se sometieron a cambios de sistemas de hábitat, sino porque se evidenció un incremento en su condición durante el cautiverio. Sin embargo, es muy importante confirmar y contrastar estos resultados a partir de evaluaciones del factor de condición en la misma especie en vida silvestre y otras especies de rayas de agua dulce, con el fin de establecer el desempeño de esta variable en ambientes silvestres vs cautiverio.

Dado que el factor de condición es un parámetro que demostró ser útil para monitorear el bienestar físico en rayas de agua dulce en cautiverio, es importante establecer los valores en poblaciones de vida silvestre, y así tener puntos de referencia para evaluar el potencial efecto que el cautiverio podría estar teniendo en ejemplares comercializados en acuarios, y así diseñar protocolos de manejo específicos para las especies, garantizando el bienestar de las mismas y disminuyendo las tasas de mortalidad en cadenas comerciales de peces ornamentales.

1.6. Referencias

Adeogun, A. O., Ibor, O. R., Regoli, F., & Arukwe, A. (2016). Peroxisome proliferator-activated receptors and biotransformation responses in relation to condition factor and contaminant burden in tilapia species from Ogun River, Nigeria. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 183-184, 7-19.

Basusta, A., Basusta, N., Calta, M., Ozer, E. I., & Girgin, H. (2013). Length-Weight Relationship and Condition Factor of Spiny Gurnard (Lepidotrigla dieuzeidei Blann and Hureau, 1973) Inhabiting Northeast Mediterranean Sea. Journal of Animal and Veterinary Advances, 12(2), 212-214.

Beck, M. (2016). Juvenile Wild Lemon Shark (Negaprion brevirostris) Health Assessment: Establishing a Baseline and Assessment Procedure for the Health of the South Caicos Juvenile Lemon Shark Population (Doctoral dissertation).

Bolger, T. & Connolly, P. (1989). The selection of suitable indices for the measurement and analysis of fish condition. *Journal of Fish Biology* 34, 171-182.

Bonilla-Florez, J.A., Mayer, P., Fuster, V. D. E., & Cerda, M. J. (2017). Cambios en el índice de condición y relación longitud peso durante el ciclo de crecimiento de la dorada (*Sparus aurata*) en jaulas marinas. Revista AquaTIC, (47), 20-31.

Caldas, J.P., E. Castro-González, V. Puentes, M. Rueda, C. Lasso, L.O. Duarte, M. Grijalba-Bendeck, F. Gómez, A.F. Navia, P.A. Mejía-Falla, S. Bessudo, M.C. Diazgranados y L.A. Zapata (Eds.). (2010). Plan de Acción Nacional para la Conservación y Manejo de Tiburones, Rayas y Quimeras de Colombia (PAN Tiburones-Colombia). Instituto Colombiano Agropecuario, Secretaría Agricultura y Pesca San Andrés Isla, Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, Instituto Alexander Ven Humboldt, Universidad del Magdalena, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Pontificia Universidad Javeriana, Fundación SQUALUS, Fundación Malpelo y otros Ecosistemas Marinos, Conservación Internacional, WWF Colombia. Editorial Produmedios, Bogotá. 60p.

Cifuentes, R., González, J., Montoya, G., Jara, A., Ortíz, N., Piedra, P. & Habit, E. (2012). Relación longitud-peso y factor de condición de los peces nativos del río San Pedro (cuenca del río Valdivia, Chile). Gayana (Concepción); 76: 86-100.

Cortés, E. (2004). Life history patterns, demography, and population dynamics. Biology of sharks and their relatives, 449-469.

De Loyola- Fernández, I., Báez, J.C., García-Barcelona, S., Camiñas, J.A., Ortíz de Urbina, J.M., & Macías, D. (2017). Length-weight relationships of Kitefin Shark Dalatias Licha, and Little Sleeper Shark Somniosus rostratus from the Western Mediterranean Sea, and Long Snouted Lancetfish Alepisaurus ferox from the Eastern North Atlantic Ocean. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 17, 1073–1076.

Dibattista, J. D., Feldheim, K. A., Gruber, S. H., & Hendry, A. P. (2007). When bigger is not better: selection against large size, high condition and fast growth in juvenile lemon sharks. Journal of Evolutionary Biology, 20(1), 201-212.

Ehemann, N.R., Pérez-Palafox, X.A., Mora-Zamacona, P., Burgos-Vázquez, M.I., Navia, A.F., Mejía-Falla, P.A., & Cruz-Escalona, V.H. (2017). Size–weight relationships of batoids captured by artisanal fishery in the southern Gulf of California, Mexico. Journal of applied ichthyology, 33(5), 1051-1054.

Fazli, H., Daryanabard, G., Salmanmahiny, A., Abdolmaleki, S., Bandani, G., & Afraei-Bandpei, M. A. (2012). Fingerling release program, biomass trend and evolution of the condition factor of Caspian Kutum during the 1991-2011 period. Cybium, 36(4), 545-550.

Froese, R. (2006). Cube law, condition factor and weight–length relationships: history, meta-analysis and recommendations. Journal of applied ichthyology, 22(4), 241-253.

Galvis, G., J.I. Mojica y M. Camargo. (1997). Peces del Catatumbo. ECOPETROL / OXY / SHELL – Asociación Cravo Norte. D´Vinni Edit. Ltda, Santa Fe de Bogotá. 118 pp.

Giarrizzo, T., de Sena Oliveira, R.R., Costa Andrade, M., Pedrosa Gonçalves, A., Barbosa, T.A. P., Martins, A.R., Marques, D.K., Brito dos Santos, J.L., de Paula da Silva Frois, R., Oliveira de Albuquerque, T.P. & Fogaça de Assis Montag, L. (2015). Length–weight and length–length relationships for 135 fish species from the Xingu River (Amazon Basin, Brazil). Journal of Applied Ichthyology, 31(2), 415-424.

Hadfield, C.A., & Clayton, L.A. (2017). Elasmobranch quarantine. En: The Elasmobranch Husbandry Manual II, 113.

Hernández-Serna, A., Márquez-Velásquez, V., Carvajal-Quintero, J.D., Gulfo, A., Granado-Lorencio, C. & Jiménez-Segura, L.F. (2014). Length–weight relationships of 38 fish species of the Magdalena River floodplain lakes. Journal of applied ichthyology, 30(3), 549-551.

Huntingford, F.A., & Kadri, S. (2008). Welfare and fish. Fish welfare, 1, 19-32.

Jakob, E. M., Marshall, S.D. & Uetz, G. W. (1996). Estimating fitness: a comparison of body condition indices. *Oikos*, 61-67.

Lasso, C.A., R.S. Rosa, P. Sánchez-Duarte, M.A. Morales.Betancourt y E. Agudelo-Córdoba (Eds). (2013). IX. Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte I. Colombia, Venezuels, Ecuador, Perú, Brasil, Guyana, Surinam y Guayana Francesa: diversidad, bioecología, uso y conservación. Serie Editorial Recursos Hidrobiológios y Pesqueros Continentales de Colombia. Instituto de Investigación de los Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). Bogotá, D.C., Colombia. 368 pp.

Logan, R.K., White, C. F., Winkler, C., Jorgensen, S.J., O'Sullivan, J.B., Lowe, C.G., & Lyons, K. (2018). An evaluation of body condition and morphometric relationships within southern California juvenile white sharks Carcharodon carcharias. Journal of fish biology, 93(5), 842-849.

Mejía-Falla, P.A., V. Ramírez-Luna, J.S. Usma, L.A. Muñoz-Osorio, J.A., Maldonado-Ocampo, A.I. Sanabria y J.C. Alonso. (2009). Estado del conocimiento de las rayas dulceacuícolas de Colombia. Cap. V, págs. 195-245. En: Puentes, V., A.F. Navia., P.A. Mejía-Falla, J.P. Caldas, M.C. Diazgranados y L.A. Zapata-Padilla (Eds). (2009). Avance en el conocimiento de tiburones, rayas y quimeras de Colombia. Fundación SQUALUS, Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, Instituto Colombiano Agropecuario, COLCIENCIAS, Conservación Internacional, WWF Colombia, 245p.

Mejía-Falla, P.A., V. Ramírez-Luna, J.S. Usma, L.A. Muñoz-Osorio, J.A. Maldonado-Ocampo, A.I. Sanabria y J.C. Alonso. 2009. Estado del conocimiento de las rayas dulceacuícolas de Colombia. Cap. V, págs. 195-245. En: Puentes, V., A.F. Navia., P.A. Mejía-Falla, J.P. Caldas, M.C. Diazgranados y L.A. Zapata-Padilla (Eds). 2009. Avance en el conocimiento de tiburones, rayas y quimeras de Colombia. Fundación SQUALUS, Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, Instituto Colombiano Agropecuario, COLCIENCIAS, Conservación Internacional, WWF Colombia, 245p.

Mejía-Falla, P.A., L.A. Muñoz-Osorio, E. Galindo, J. López, J.G. Pérez-Rojas y A.F. Navia. (2014). Informe técnico de la evaluación de la dinámica pesquera y la distribución de P. magdalenae en la cuenca del Magdalena y aportes a su historia de vida. Documente técnico AUNAP-CI. 58 pp.

Mejía-Falla, P.A., Pérez-Rojas, J.G., Gómez-Martínez, D., Muñoz-Osorio, L.A., Galindo, E., López-García, J., Pedreros, T.M., Fernández, G. & Navia, A.F. (2016). Avances en el conocimiento de *Potamotrygon magdalenae* (Dumeril, 1865), raya dulceacuícola endémica de Colombia. En: Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte II: Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina. Serie Editorial Recursos Hidrobiológios y Pesqueros Continentales de Colombia. Instituto de Investigación de los Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). Bogotá, D.C., Colombia. 368 pp.

Mendes, B., Fonseca, P., & Campos A. (2004). Weight-length relationships for 46 fish species of the Portuguese west coast. Journal of Applied Ichthyology, 20, 355–361.

Mohan, P.J., & Aiken, A.N. (2004). Water quality and life support systems for large elasmobranch exhibits. En: The elasmobranch husbandry manual: captive care of sharks, rays and their relatives. Columbus (OH): Special Publication of the Ohio Biological Survey, 69-88.

Montes de Oca, M., Jordano, J., & Tenorio, E.A. (2009). Diagnóstico de la Calidad de Agua en Pozos Excavados de Tres Comunidades del Valle del Yeguare, Honduras (No. T2797). Escuela agrícola panamericana.

Nikolsky, G.V. (1969). Theory of the Fish Population Dynamics as the Biological Background for Rational Exploitation and Management of Fisheries Resources. Oliver and Boyd: Edinburgh. 322 p.

Pauly, D. (1984). Fish population dynamics in tropical waters: a manual for use with programmable calculators International Center for Living Aquatic Resource Management, ICLARM. Manila. 41p.

Pedreros-Sierra, T. & Ramírez-Pinilla, M.P. (2015). Morphology of the reproductive tract and acquisition of sexual maturity in males of *Potamotrygon magdalenae* (Elasmobranchii: Potamotrygonidae). Journal of morphology, 276(3), 273-289.

Pedreros-Sierra, T., Arrieta-Prieto, D.M., & Mejía-Falla, P.A. (2016). Reproductive system of females of the Magdalena river endemic stingray *Potamotrygon magdalenae*: Anatomical and functional aspects. Journal of morphology, 277(5), 680-697.

Pérez-Rojas, J.G., A.F. Navia y Mejía-Falla P.A. (2015). Efecto de la temperatura sobre el crecimiento ex situ de la raya de río *Potamotrygon magdaleane*. Informe final, programa Joven Investigador COLCIENCIAS.

Pottinger, T.G. (2008). The stress response in fish-mechanisms, effects and measurement. En: Fish Welfare. Blackwell Publishing Ltd, UK, 32-48.

Ramos-Socha, H. (2010). Algunos aspectos biológicos de la raya de agua dulce Potamotrygon magdalenae (Dumeril, 1865) (Chondrichthyes: Myliobatiformes) en la ciénaga de Sabayo, Guaimaral, Magdalena, Colombia. Trabajo de Grado, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Facultad de Ciencias Naturales, Programa de Biología Marina, Santa Marta. 80 pp.

Ramos Socha, H. & Grijalba Bendeck, M. (2011). Bioecology of the freshwater stingray *Potamotrygon magdalenae* (Duméril, 1865) (MYLIOBATIFORMES) from the ciénaga de Sabayo, Guaimaral, Colombia. Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica, 14(2), 109-118.

Reynolds, J., Hornbrook, E., Stettner, G., & Terrell, R. (2017). Husbandry of freshwater stingrays. The Elasmobranch Husbandry Manual II, 99.

Ricker, W. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Bulletin Fisheries Research. Board of Canada. 191: 382 pp.

Ross, R. (2004). Chapter 31: Husbandry of freshwater stingrays of the family Potamotrygonidae. En: Smith, M.D., D. Warmolts, D. Thoney and R. Hueter (Eds). 2004. The elasmobranch husbandry manual: Captive care of sharks, rays and their relatives. Special publication of the Ohio Biological Survey. Xv + 589 p.

Sarkar, U.K., Khan, G.E., Dabas, A., Pathak, A.K., Mir, J.I., Rebello, S. C., Pal, A., Singh, S. P. (2013). Length weight relationship and condition factor of selected freshwater fish species found in River Ganga, Gomti and Rapti, India. Journal of Environmental Biology, 34, 951-956.

Teshima, K. y K. Takeshita. (1992). Reproduction of the freshwater stingray, Potamotrygonmagdalenae taken from the Magdalena River System in Colombia, South America. BulletinSeikai Natural FisheriesResearchInstitute, 70: 11-27.

Yigin, C.C. & Ismen, A. (2009). Length-weight relationships for seven rays from Saros Bay (North Aegean Sea). Journal of Applied Ichthyology, 25, 106–108.

2. Capítulo 2: Caracterización hematológica de la raya de río *Potamotrygon magdalenae* en condiciones de cautiverio

2.1. Resumen

Aunque el uso de variables hematológicas en el estudio de diversos temas en rayas de agua dulce va en crecimiento, actualmente existe un vacío en el establecimiento de líneas base de parámetros hemáticos y de química sanguínea para diferentes especies. En este trabajo se realizó la caracterización y comparación de constante hematológicas en adultos de *Potamotrygon magdalenae*, especie con alto interés comercial en mercados ornamentales y altas tasas de mortalidad en confinamiento, con el fin de proveer un acercamiento inicial a la construcción de líneas base para la especie, que puedan usarse en el diagnóstico y monitoreo del estado fisiológico y de salud de animales en cautiverio. Para ello se colectó sangre de 11 individuos adultos (machos = 4, hembras = 6) y se realizaron hemogramas y análisis de química sanguínea. Se encontraron todos los tipos de leucocitos descritos para elasmobranquios, a excepción de los neutrófilos. Las hembras presentaron mayores valores que los machos en la mayoría de las variables analizadas, con excepción del conteo de heterófilos y de linfocitos, así como el porcentaje de estos últimos. No se encontraron diferencias entre sexos para ninguna de las variables evaluadas, con excepción del conteo de linfocitos, característica previamente reportada para varias especies de Potamotrigónidos. Se concluye que el uso del análisis de hemograma y química sanguínea es una herramienta muy útil en la evaluación del estado de salud y bienestar de rayas de agua dulce en cautiverio.

2.2. Introducción

La hematología es una de las herramientas más usadas en la evaluación fisiológica del estado de salud de peces, dada la facilidad de recolección y análisis de las muestras, el poco impacto que genera sobre la calidad de vida de los individuos y su complementariedad con otras prácticas rutinarias de evaluación y diagnóstico (Oliveira *et al.*, 2016). Dado que se basa en la comparación de parámetros entre individuos de vida libre versus organismos en cautiverio, la identificación y definición de los valores normales y basales, es el punto crucial de la implementación de la técnica (Ranzani-Paiva & Silva-Souza, 2004).

Los análisis de constantes sanguíneas han sido utilizados en peces como indicadores indirectos de estrés y de enfermedades, para el análisis de dietas y sus variaciones individuales y poblacionales (Madigan *et al.*, 2015; Trystram *et al.*, 2016), así como para la caracterización de estrategias metabólicas y de estrategias fisiológicas adaptativas relacionadas con variaciones ambientales (Oliveira *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2017). De manera similar, estudios sobre las características cualitativas y cuantitativas de los leucocitos pueden indicar particularidades del sistema inmune de determinada especie o población (Tavares-Dias & Moraes, 2007). En animales en cautiverio, el análisis de constantes hemáticas permite analizar cómo los animales que han sido trasladados de su medio natural pueden adaptarse fisiológicamente a sus nuevos ambientes (Harms *et al.,* 2002).

Aunque la utilidad de la hematología, especialmente en el diagnóstico clínico y evaluación del bienestar de los animales ha sido demostrada, esta técnica ha sido poco utilizada en poblaciones silvestres o en cautiverio tanto de elasmobranquios marinos (Walsh & Luer, 2004), como en rayas de agua dulce (Brinn *et al.*, 2012; Camargo-Pastório, 2014; Oliveira *et al.*, 2016).

La familia Potamotrygonidae alberga 35 especies de rayas de agua dulce (Fricke *et al.,* 2019), la mayoría con alto interés ornamental y comercializadas en países como Estados Unidos, Japón, Taiwán y Alemania (Rosa, 1985; Charvet-Almeida *et al.,* 2011). Recientes trabajos han caracterizado las líneas base de constantes sanguíneas en rayas de agua dulce, con el fin de usar esta información para comprender los efectos fisiológicos del transporte (Brinn *et al.*, 2012), el efecto del hábitat o estadio de vida sobre los perfiles hemáticos, y el efecto del ambiente sobre la alteración de estas variables (Oliveira *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2017). Así mismo, Brito *et al.* (2015) y Oliveira *et al.* (2016) generaron información de línea base sobre las características morfológicas, aspectos citoquímicos, variables hematológicas, hormonales, bioquímicas séricas y fauna parasitaria en siete especies de rayas de agua dulce con alto interés comercial en Brasil.

Varias especies cuentan con información sobre parámetros hemáticos en vida silvestre, como *Potamotrygon histrix* (Brinn *et al.,* 2012; Camargo-Pastório, 2014)*, Potamotrygon motoro* (Benites de Pádua *et al.,* 2010; Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016)*, Paratrygon aiereba*, *Potamotrygon wallaceii* (Oliveira *et al.*, 2016)*, Potamotrygon orbignyi*, *Potamotrygon scobina* y *Potamotrygon* spp. (Brito *et al.*, 2015)*.* Sin embargo, es importante resaltar que todos estos reportes se realizaron en poblaciones silvestres de Brasil.

Potamotrygon magdalenae es una especie endémica de Colombia, restringida a las cuencas de los ríos Magdalena, Cauca, Atrato, Catatumbo y San Jorge (Mejía-Falla *et al.*, 2009; Caldas *et al.*, 2010). Es una especie que se caracteriza por ser carnívora entomófaga, con una preferencia marcada por larvas de dípteros, quironómidos y efemerópteros (Lasso *et al.,* 2013; Mejía-Falla *et al.*, 2016; Márquez-Velásquez, 2017). Esta especie tiene un alto interés ornamental, siendo principalmente capturados animales pequeños (12-17 cm ancho de disco) para su comercialización a nivel nacional e internacional, y ante el colapso de las pesquerías en algunas regiones, los adultos se usan con fines de consumo de subsistencia (Lasso *et al.*, 2013).

El uso de variables hematológicas en el estudio de diversos temas en rayas de agua dulce va en crecimiento y se ha señalado su importancia como método útil y poco invasivo para evaluar estrés y condición de salud (Brinn *et al.*, 2012; Mejía-Falla *et al.*, 2016). Pese a ello, aún existe un vacío en la línea base de parámetros hemáticos y de química sanguínea para las especies de rayas de agua dulce de Colombia, en particular si se tiene en cuenta que las respuestas fisiológicas a procesos de estrés, como los causados en transporte, confinamiento o cambio de hábitat, son especie-específicas (Skomal & Mandelman, 2012). Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue caracterizar el perfil hemático y de química sanguínea de *P. magdalenae* en cautiverio, como línea base para posteriores evaluaciones fisiológicas y de bienestar animal en poblaciones silvestres y cautivas.

2.3. Métodos

2.3.1. Sistema de estudio

Este estudio se desarrolló con 11 rayas adultas (cinco machos, seis hembras) de *P. magdalenae*, capturadas en la cuenca media del río Magdalena (permiso marco de la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP), enmarcado en el convenio AUNAP-SQUALUS No.138 de 2014).
El hábitat *ex-situ* de los animales consistió de cuatro tanques de polipropileno de 113 cm de diámetro, 46 cm de altura y 500 L de capacidad, los cuales fueron diseñados y construidos en las instalaciones del Laboratorio de Modelación Animal (LAMA) de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Con el fin de mantener la calidad de agua y el soporte de vida, se diseñaron y construyeron dos sistemas de recirculación de agua iguales, con módulos de filtración mecánica y biológica, calefacción y aireación. Los animales se mantuvieron aclimatados a condiciones de cautiverio durante cuatro años, tiempo durante el cual presentaron eventos reproductivos exitosos, lo cual es un indicador de adaptación al medio (Mejía-Falla *et al.*, 2016).

2.3.2. Manejo de los animales y colecta de sangre

Para la extracción de sangre de manera segura, las rayas fueron anestesiadas usando Eugenol (0.2 g/L) y, una vez alcanzaron la inmovilidad, se midieron (ancho de disco; AD; cm), pesaron (W; g) y se les extrajo la sangre por punción del vaso branquial. La sangre extraída se recolectó en tubos para vacutecnia con EDTA 10% y tubos sin anticoagulante (Vacuette®, Greiner Bio-one, USA). La cantidad de sangre extraída fue inferior al 1% del peso del animal, para evitar descompensación. Todos los procedimientos de anestesia y colecta de sangre se realizaron siguiendo las indicaciones de Oliveira *et al.* (2012) para rayas de agua dulce, y bajo el amparo del aval ético CEMED-037 del Comité de Ética de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.

2.3.3. Análisis sanguíneos

La sangre recolectada en tubos con EDTA 10% fue usada para la elaboración de los cuadros hemáticos, la estimación de hematocrito y los conteos celulares, mientras las muestras recolectadas en tubos sin anticoagulante se centrifugaron a 3500 RPM por cinco minutos, con el fin de obtener el suero para realizar los análisis de química sanguínea.

- **Cuadro hemático**

Se estimaron los valores de las siguientes constantes sanguíneas para el eritrograma: conteo de eritrocitos (RBC), hematocrito (Ht), concentración de hemoglobina (Hb), volumen corpuscular medio (VCM), volumen medio de hemoglobina (VMH) y concentración media corpuscular de hemoglobina (CMCH). El conteo de eritrocitos se realizó en cámara de Neubauer, usando el reactivo de Natt-Herrick y solución salina fisiológica como diluyente (Conroy, 1998). El hematocrito se estimó mediante la técnica de microhematocrito; la concentración de hemoglobina se midió con el método de la cianometahemoglobina, leyendo en espectrofotómetro a 546 nm. El VCM expresado en fenolitros (fL), el VMH expresado en microgramos (μg) y la CMCH expresada en gramos por decilitros (g/dL), se estimaron a partir de las fórmulas descritas por Tavares-Dias, Melo, Moraes & Moraes (2002). Para el leucograma y el trombograma se realizó un recuento diferencial de leucocitos en extendidos de sangre periférica teñidos con colorante Grünwald-Giemsa-Wright (Walsh & Luer, 2004).

- **Química sanguínea**

Los valores de glucosa, triglicéridos, colesterol, urea y proteínas séricas se estimaron a través de métodos colorimétricos, usando kits comerciales específicos para cada uno de los parámetros (BioSystems, Colombia). Las lecturas se realizaron para cada parámetro, por medio de un analizador de química sanguínea (BioSystems A15) a longitudes de onda de 500 nm para glucosa, colesterol y triglicéridos y 545 nm para proteína sérica. Las proteínas plasmáticas se midieron en un refractómetro, posterior a la centrifugación de la sangre para hematocrito (8000 RPM por cinco minutos).

2.3.4. Análisis estadísticos

Los resultados cuantitativos de los parámetros sanguíneos fueron analizados mediante estadística descriptiva, indicando los valores máximos, mínimos, mediana, percentiles 25 y 75, promedio y desviación estándar de cada una de las variables analizadas. Con el fin de establecer diferencias entre sexos para cada uno de los parámetros sanguíneos analizados se realizó una prueba pareada no paramétrica U-Mann-Whitney, Todos los análisis estadísticos se consideraron significativos cuando $p < 0.05$ (Zar, 1999).

2.4. Resultados

Las hembras de *P. magdalenae* presentaron tallas entre 18.5 y 21.5 cm AD, siendo significativamente más grandes que los machos ($p = 0.008$; Tabla 1), los cuales presentaron tallas entre 15 y 16 cm AD. Este mismo patrón se encontró al analizar los pesos, con las hembras oscilando entre 400 y 600 g y los machos entre 250-310 g ($p = 0.008$; Tabla 1).

Una de las muestras tomadas a un macho se coaguló, por lo que fue excluida de los análisis de serie roja y blanca. Los parámetros de la serie roja fueron ligeramente más altos en hembras (basados en la mediana), excepto para RBC, donde ambos sexos presentaron el mismo valor (0.25 mil eri/uL; Tabla 1). Sin embargo, ninguno de estos parámetros difirió significativamente entre sexos ($p > 0.05$ para todos los casos; Tabla 1). El P25-P75 mostró una mayor variación en los resultados de las hembras para la mayoría de las variables analizadas, con excepción de Hb dónde la variación fue mayor en los machos.

Se identificaron seis tipos de células sanguíneas diferentes. Eritrocitos en la serie roja, heterófilos, eosinófilos, linfocitos y monocitos en la serie blanca, y trombocitos. En el presente estudio no se encontraron eosinófilos en los machos y neutrófilos en ninguno de los sexos (Fig. 1).

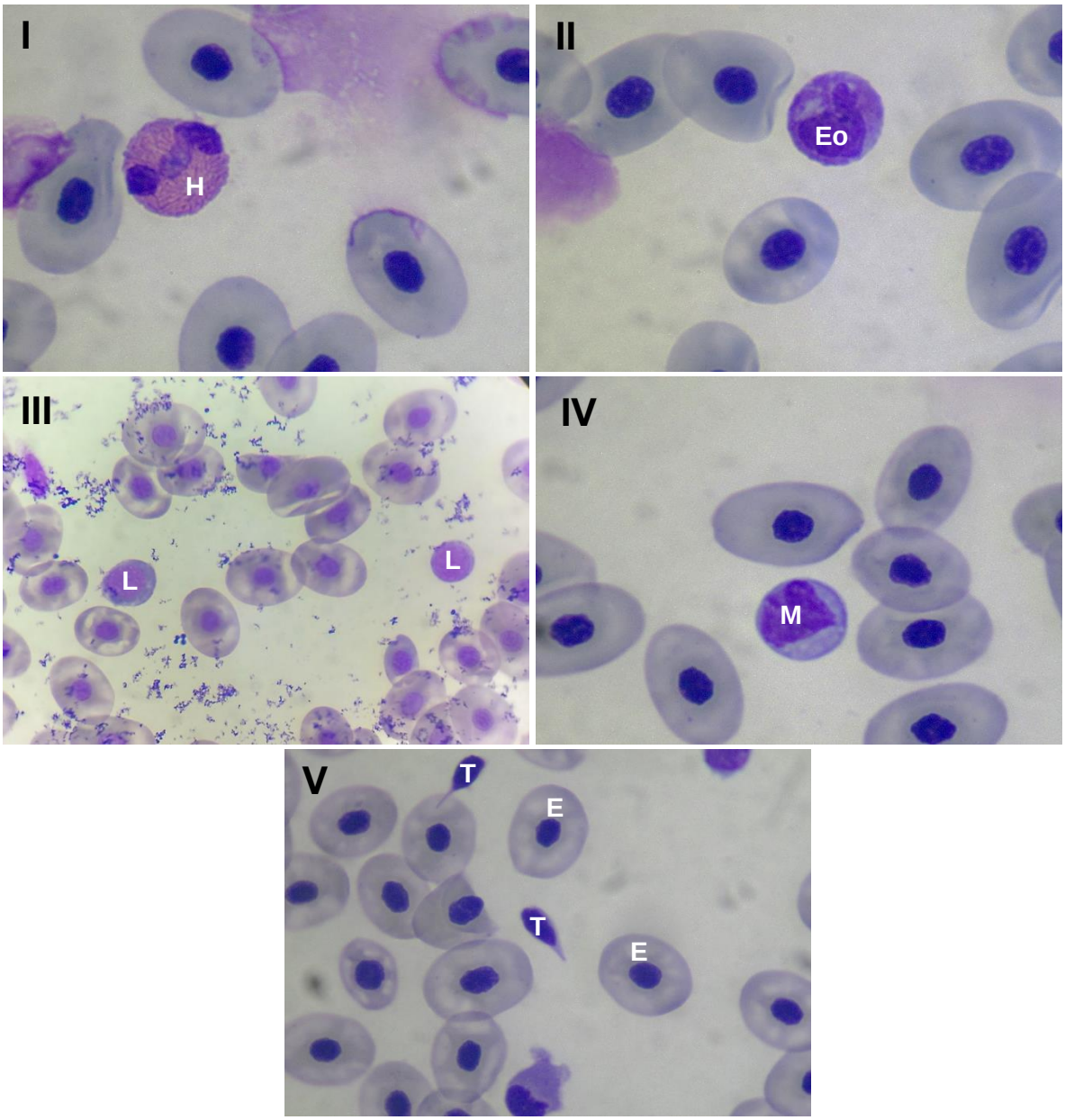


Figura 1. Células sanguíneas de *Potamotrygon magdalenae* (100x). I: Heterófilo (H). II: Eosinófilo (Eo). III: Linfocitos (L). IV: Monocito (M). V: Trombocitos (T) y eritrocitos (E)

El leucograma de *P. magdalenae* mostró valores de leucocitos, heterófilos (/μL), linfocitos (/μL; %), monocitos (/μL) y trombocitos (/μL) más altos para machos, mientras las hembras presentaron valores más altos de heterófilos (%) y monocitos (%). La variación en los resultados (P25-P75) fue mayor en las hembras que en machos, siendo esto una excepción en los leucocitos (/μL), linfocitos (/μL) y monocitos (/μL). Los trombocitos fueron menores para las hembras que para los machos, mientras en estos últimos se encontró mayor variación para esta variable.
No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre sexos para ninguno de los parámetros analizados de la serie blanca, con excepción de la cantidad de linfocitos (/μL; Tabla 1).

En cuanto a los análisis de química sanguínea, los machos presentaron mayores valores en todos los parámetros, excepto en el contenido de urea y glucosa, las cuales fueron ligeramente más altas en las hembras; sin embargo, ningún parámetro mostró diferencias significativas entre sexos ($p > 0.05$ para todos los casos; Tabla 1).

Tabla 1. Valores de los parámetros evaluados para hembras y machos de *Potamotrygon magdalenae*, incluyendo variables físicas (talla, peso), eritograma (serie roja), leucograma y trombograma (serie blanca) y química sanguínea. SD = desviación estándar. Letras diferentes resaltadas indican diferencias significativas entre sexos para la prueba U de Mann-Whitney. $n_{hembras} = 6$, $n_{machos} = 4$. Se muestran los valores promedio y la SD para fines comparativos (ver discusión).

Parámetro	Sexo	Min	Max	Mediana	P25-P75	Promedio	SD ±
VARIABLES FÍSICAS ($n_{Hembras} = 6$; $n_{Machos} = 5$)							
Ancho de disco	Hembras	18.5	21.5	20.75[a]	19.38 - 21.38	20.33	1.29
	Machos	14.5	16	15.50[b]	15 - 15.50	15.30	0.57
Peso	Hembras	400	600	550[a]	512.50 - 587.5	533.33	75.28
	Machos	250	310	260[b]	260 - 300	276	27.02
SERIE ROJA ($n_{Hembras} = 6$; $n_{Machos} = 4$)							
RBC (mil eri/uL)	Hembras	0.18	0.35	0.25[a]	0.22 - 0.28	0.25	0.06
	Machos	0.23	0.33	0.25[a]	0.24 - 0.27	0.26	0.04
Hb (g/dL)	Hembras	4.40	5.70	4.95[a]	4.83 - 5.30	5.03	0.46
	Machos	3.50	4.80	4.55[a]	4.10 - 4.80	4.35	0.61
Ht (%)	Hembras	18	25	20.50[a]	18.50 - 21.75	20.67	2.66
	Machos	15	20	18[a]	16.50 - 19.25	17.75	2.22
VCM (fL)	Hembras	714.20	1028	806[a]	727.13 - 944.08	840.86	135.07
	Machos	523	833	706.05[a]	619.83 - 778.25	692.03	134.98

VMH (pg)	Hembras	142.80	274.20	213.85[a]	169.95 - 243.05	208.80	51.37
	Machos	132.30	200	172.05[a]	147.15 - 194	169.10	32.26
CMCH (g/dL)	Hembras	20	27.20	25.80[a]	22.93 - 26.43	24.57	2.88
	Machos	23.30	25.20	24.60[a]	23.83 - 25.20	24.43	0.94
SERIE BLANCA ($n_{Hembras}$ = 6; n_{Machos} = 4)							
Leucocitos (/µL)	Hembras	3780	10140	4142.50[a]	3908.75 - 5632.50	5360.83	2496.34
	Machos	6125	11615	9145[a]	7868.75 - 10283.75	9007.50	2317.45
Heterófilos (%)	Hembras	18.00	74.00	42.00[a]	33 - 51.75	43.50	19.34
	Machos	10.00	47.00	32.50[a]	24.25 - 38.75	30.50	15.55
Heterófilos (/ µL)	Hembras	1099	7503	1601.50[a]	1352 - 2079.75	2552.17	2454.89
	Machos	1162	3972	2529.50[a]	1944.25 - 3133.50	2548.25	1177.58
Eosinófilos (%)	Hembras	0.00	2.00	0.50[a]	0 - 1	0.67	0.82
	Machos	0.00	0.00	0.00[a]	0 - 0	0.00	0.00
Eosinófilos (/µL)	Hembras	0.00	84.00	20.50[a]	0 - 56	31	36.58
	Machos	0.00	0.00	0.00[a]	0 - 0	0.00	0.00
Linfocitos (%)	Hembras	25	76	53.50[a]	44 - 62.25	52.33	17.76
	Machos	0.71	88	56.50[a]	38.43 - 68.50	50.43	36.60
Linfocitos (/µL)	Hembras	1716	4644	2364.50[**a**]	1966 - 2649.75	2611.17	1062.03
	Machos	3798	10221	5647.50[**b**]	4181.25 - 7794.75	6328.50	2947.64
Monocitos (%)	Hembras	1.00	5.00	3.50[a]	3 - 4.75	3.50	1.52
	Machos	0.00	2.00	2.00[a]	1.50 - 2	1.50	1.00
Monocitos (/uL)	Hembras	101	306	140[a]	123.75 - 180.25	166.50	74.76
	Machos	0.00	232	145.50[a]	91.50 - 184.75	130.75	98.13
Trombocitos (/µL)	Hembras	3525	11760	5968.50[a]	4202.50 - 10478	7136.17	3743.09
	Machos	5000	7800	7096.50[a]	6166.25 - 7678.50	6748.25	1289.90
QUÍMICA SANGUÍNEA ($n_{Hembras}$ = 6; n_{Machos} = 5)							
Urea (mg/dL)	Hembras	2.00	8.00	5.00[a]	5 - 7.25	5.50	2.26
	Machos	3.00	8.00	3.00[a]	3 - 6	4.60	2.30
Triglicéridos (mg/dL)	Hembras	26.00	92.00	37.50[a]	29.75 - 65.50	49.17	27.28
	Machos	38.00	73.00	64.00[a]	54 - 65	58.80	13.44
Proteínas plasmáticas (g/L)	Hembras	14.00	24.00	18.00[a]	18 - 19.50	18.67	3.27
	Machos	20.00	26.00	20.00[a]	20 - 21.50	21.50	3.00
Proteínas séricas (g/L)	Hembras	7.39	13.26	9.76[a]	8.49 - 12.34	10.24	2.45
	Machos	6.76	13.38	11.30[a]	9.54 - 11.31	10.46	2.47
Glucosa (mg/dL)	Hembras	21.00	35.00	24.00[a]	22.50 - 25.50	25.33	5.05
	Machos	21.00	31.00	23.00[a]	22 - 26	24.60	4.04
Colesterol (mg/dL)	Hembras	30.00	72.00	42.50[a]	37.75 - 54.75	47.00	15.41
	Machos	39.00	65.00	53.00[a]	47 - 55	51.80	9.65

2.5. Discusión

Establecer los valores de referencia y línea base de variables hematológicas y de química sanguínea, constituye el primer paso para generar herramientas de evaluación de salud en elasmobranquios mantenidos en cautiverio. Aunque se conocen antecedentes en especies marinas y de algunas especies de rayas de agua dulce (Semeniuk *et al.*, 2009; Brito *et al.*, 2015; de Oliveira *et al.*, 2016), este trabajo representa la primera aproximación al establecimiento de valores de referencia de *P. magdalenae* en cautiverio.

Al igual que en muchas otras especies de Potamotrygonidos (e.g. *Potamotrygon wallacei*, *Paratrygon aiereba*; Oliveira *et al.*, 2016), así como poblaciones silvestres de *P. magdalenae*, las hembras usadas en este estudio presentaron mayores tallas y pesos que los machos, lo cual se esperaba teniendo en cuenta que se trataban de animales provenientes del medio silvestre y habitaban la cuenca media del Magdalena donde este dimorfismo ya ha sido reportado (Mejía-Falla *et al.*, 2016). En este sentido, las diferencias corporales por sexos no mostraron efecto significativo en los parámetros hematológicos de la especie, lo cual constituye una característica comúnmente reportada en rayas de agua dulce, y ha sido encontrado incluso entre estadios de vida y entre especies (Brinn *et al.*, 2015; Oliveira *et al.,* 2016), por lo que se ha hipotetizado puede deberse a características inmunológicas conservadas (Oliveira *et al.*, 2016).

Los individuos analizados de *P. magdalenae* presentaron menor cantidad de glóbulos rojos (RBC) y valores promedio de Hb y Ht similares a *P. wallacei, P. motoro, Paratrygon aiereba* (Oliveira *et al.*, 2016) y *P. falkneri, P. motoro, P. orbignyi, P. scobina* (Brito *et al.*, 2015), así como valores de Ht similares a lo reportado por Brinn *et al.* (2012) para *P. hystrix*. Así mismo, se encontraron eritrocitos de mayor tamaño (VCM) y mayor cantidad de hemoglobina (VMH, CMCH) en las células, en comparación con estas mismas especies (Brinn *et al.*, 2012; Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016). Esto muestra una posible compensación fisiológica en *P. magdalenae* pues, aunque tienen menor cantidad de células disponibles, estas son de mayor tamaño, lo que les permite mayor capacidad de albergar oxígeno, lo cual resulta una característica importante para su supervivencia en ambientes con concentraciones bajas de oxígeno en el agua (Fundación SQUALUS, datos sin publ.).

Por su parte, la menor cantidad de eritrocitos en *P. magdalenae*, comparada con tiburones y peces óseos, es atribuida a su comportamiento sedentario y por tanto una baja tasa metabólica, tal y como ha sido sugerido previamente (Wilhelm-Filho *et al.*, 1992; Brito *et al.*, 2015; Grant, 2015; Oliveira *et al.*, 2016). Este resultado podría también estar influenciado por el largo periodo de cautiverio de estos ejemplares (≈ 4 años), donde se ven forzados a un mayor sedentarismo, a un bajo gasto energético en alimentación (búsqueda o competencia), a la ausencia de amenazas por depredadores y a desplazamientos diarios muy cortos. Esto podría también explicar los resultados obtenidos en el eritrograma, pues el ambiente y las acciones antropogénicas pueden producir cambios en las variables hematológicas debido a la influencia de, por ejemplo, alimentación diferente a la natural, alteración local de la calidad del agua o interacciones de los animales con el ser humano en actividades ecoturíticas (Semeniuk *et al.*, 2009). Dado que esta especie utiliza diferentes tipos de ambientes a lo largo de su distribución (lenticos, lóticos, ciénagas, entre otros), y que a la fecha no se dispone de ninguna línea base para poblaciones en vida silvestre, se podría hipotetizar que los valores de la serie roja podrían variar significativamente entre individuos que ocupan dichos ambientes dependiendo de variables ambientales como la calidad del agua.

Potamotrygon magdalenae presentó un promedio de leucocitos mayor que lo reportado para las otras especies de rayas de agua dulce estudiadas hasta la fecha, encontrándose todos los tipos de células descritos para dichas especies, con excepción de los neutrófilos, ausentes en ambos sexos y los eosinófilos que no se encontraron en machos; y siendo los linfocitos y los heterófilos los más representativos. Al respecto, Brito *et al.* (2015) reportaron que los leucocitos más representativos para *P. falkneri* fueron los neutrófilos, para *P. motoro* los linfocitos y para *P. orbignyi* y *P. scobina* los neutrófilos y heterófilos. Por otro lado, Oliveira *et al.* (2016) reportaron que para individuos adultos de *P. wallacei*, *P. motoro* y *Paratrygon aiereba* los leucocitos más representativos fueron los linfocitos y monocitos.

Estos resultados reflejan que para varias especies, incluyendo *P. magdalenae*, los linfocitos son las células de la serie blanca más representativas, lo cual es consecuente con lo propuesto por Walsh y Luer (2004) para elasmobranquios saludables. Sin embargo, dadas las diferencias en las proporciones celulares encontrada entre especies (Brito *et al.*, 2015), así como la gran dificultad para identificar correctamente todos los tipos leucocitarios en elasmobranquios (Grant, 2015) y la falta de consenso existente entre el tipo de nomenclatura celular adecuada para el trabajo con estas especies (nomenclatura de aves vs nomenclatura de mamíferos) que puede

llevar a identificaciones incorrectas y por ende sub o sobre estimaciones en los conteos celulares (Clauss *et al.*, 2008), es importante interpretar con precaución los resultados obtenidos en el presente estudio, y corroborarlos con más datos tanto de cautiverio como de vida silvestre.

En términos de funciones celulares y la aplicación de la evaluación leucocitaria como herramienta de diagnóstico de salud en *P. magdalenae*, vale la pena mencionar que no existen antecedentes ni valores de referencia establecidos para la especie, razón por la cual este constituye el primer aporte sobre la condición fisiológica y de salud de la especie en cautiverio. En este caso, es de resaltar la alta cantidad de leucocitos, en relación a otras especies de rayas de agua dulce en vida silvestre (Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.* 2016), lo cual podría, o ser una característica inherente a la especie, o indicar procesos de estrés o enfermedad en las rayas estudiadas en el presente trabajo. Al respecto, y dado que durante los años de cautiverio se presentaron numerosos y exitosos eventos reproductivos (Mejía-Falla *et al.*, 2016), factores como estrés y enfermedad parecieran no ser la mejor explicación al resultado. Sin embargo, es necesario obtener información de ejemplares en vida silvestre, con el fin de dilucidar esta pregunta.

La concentración promedio de urea encontrada en *P. magdalenae* fue mayor que lo reportado en *P. hystrix* (Brinn *et al.,* 2012) y por Oliveira *et al.* (2016) para *P. wallacei*, *P. motoro* y *Paratrygon aiereba*, pero más baja que lo encontrado por Brito *et al.* (2015) en *P. falkneri*, *P. motoro*, *P. orbignyi* y *P. scobina*. Al respecto, Brito *et al.* (2015) sugieren que esta variación puede deberse a diferencias interespecíficas y de hábitat propias de cada especie, mientras que Ballantyne & Robinson (2010) proponen que la urea es un osmolito de baja importancia en estas especies, debido al ambiente que habitan y la presencia de una glándula rectal atrofiada, lo que le ha restado importancia a este parámetro en estudios fisiológicos.

Los resultados de triglicéridos y colesterol no fueron concluyentes sobre el estado de nutrición de las rayas en cautiverio, dado que, aunque fueron mayores que los reportados para algunas poblaciones de vida silvestre (*P. orbignyi* y *P. scobina;* Brito *et al.*, 2015), fueron menores que en las poblaciones de *P. motoro*, *P. falkneri, P. wallacei* y *Paratrygon aiereba*, exceptuando las hembras de esta última especie con relación a las hembras de *P. magdalenae* (Brito *et al.,* 2015; Oliveira *et al.*, 2016). En cuanto a las proteínas, se encontraron valores promedio de proteína plasmática mayores que las especies evaluadas por Oliveira *et al.* (2016) en el Río Negro (Amazonas) pero valores promedio de proteína en suero menores que lo reportado en las especies evaluadas por Brito *et al.* (2015) en el río Paraná. Finalmente, los niveles de glucosa

estuvieron dentro de los valores promedio reportados por Oliveira *et al.* (2016) y Brito *et al.* (2015) en poblaciones silvestres de las rayas ya mencionadas.

Las diferencias encontradas para glucosa, lípidos y proteínas pueden estar asociadas a los hábitos alimentarios de cada una de las especies, siendo *P. magdalenae, P. orbignyi, P. scobina* y *P. wallacei* especies principalmente entomófagas, mientras las demás poseen dietas basadas principalmente en peces (Shibuya *et al.*, 2009; Lasso *et al.*, 2013; Mejía-Falla *et al.*, 2016). Igualmente es importante tener en cuenta que los individuos evaluados en este estudio fueron sometidos a una dieta basada en lombriz roja californiana durante el tiempo de cautiverio, y a la fecha no se dispone de información para concluir si esta dieta tiene un efecto significativo sobre los niveles de colesterol y triglicéridos versus aquellos que se puedan presentar en ejemplares de vida silvestre.

Aunque los niveles de glucosa se han utilizado como indicadores de respuesta secundaria de estrés en rayas de agua dulce (Brinn *et al.*, 2012) estos autores sugieren no confiar únicamente en el comportamiento de esta variable, debido a su alta sensibilidad a procesos de manipulación y colecta de sangre en los animales, y a que se ha demostrado en algunas especies de rayas de agua dulce (p.e. *Potmotrygon hystrix, Potamotrygon motoro*; Speer-Roesch *et al.*, 2006; Brinn *et al.*, 2012) una alta liberación de cuerpos cetónicos para la obtención de energía en situaciones de estrés. Es posible que esto suceda también en el caso de *P. magdalenae*, sin embargo se necesita más información sobre los niveles y comportamiento de la glucosa en esta especie que permitan recopilar información más concluyente sobre la relación entre los niveles de glucosa y el estrés.

Finalmente, los resultados obtenidos en este estudio deben ser interpretados con precaución teniendo en cuenta que se realizaron en individuos en cautiverio y no se conoce aún el comportamiento de estas variables en poblaciones silvestres de la especie. Por este motivo, resulta importante realizar la caracterización de estas variables en poblaciones silvestres, con el fin de establecer si los resultados obtenidos responden a características fisiológicas particulares de la especie, o a una aclimatación fisiológica de la población en cautiverio. Así mismo, la información de poblaciones en vida silvestre fortalecerá la evaluación del estado fisiológico y de salud de poblaciones en cautiverio así como la evaluación del componente fisiológico del bienestar animal para la especie aquí estudiada.

2.6. Referencias

Ballantyne, J. S., & Robinson, J. W. (2010). Freshwater elasmobranchs: a review of their physiology and biochemistry. Journal of Comparative Physiology B, 180(4), 475–493.

Benites de Pádua, S., Sobrinho Ventura, A., Satake, F., & Mayumi I.M. (2010). Características morfológicas, morfométricas e citoquímica das células sanguíneas da arraia ocelada *Potamotrygon motoro* (Elasmobranchii, Potamotrygonidae): estudo de caso. Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde, 14(1).

Brinn, R. P., Marcon, J. L., McComb, D. M., Gomes, L. C., Abreu, J. S., & Baldisseroto, B. (2012). Stress responses of the endemic freshwater cururu stingray (*Potamotrygon cf. histrix*) during transportation in the Amazon region of the Rio Negro. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 162(2), 139-145.

Brito, F.M.M., Claudiano, G.D.S., Yunis, J., Mundim, A.V., Tavares-Dias, M., Viadanna, P.H.O., Moraes, J.R.E & Moraes, F. R. D. (2015). Hematology, biochemical profile and thyroid hormones of four species of freshwater stingrays of the genus Potamotrygon. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 52(3), 249-256.

Caldas, J.P., E. Castro-González, V. Puentes, M. Rueda, C. Lasso, L.O. Duarte, M. Grijalba-Bendeck, F. Gómez, A.F. Navia, P.A. Mejía-Falla, S. Bessudo, M.C. Diazgranados & L.A. Zapata (Eds.). (2010).Plan de Acción Nacional para la Conservación y Manejo de Tiburones, Rayas y Quimeras de Colombia (PAN Tiburones-Colombia). Instituto Colombiano Agropecuario, Secretaría Agricultura y Pesca San Andrés Isla, Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, Instituto Alexander Ven Humboldt, Universidad del Magdalena, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Pontificia Universidad Javeriana, Fundación SQUALUS, Fundación Malpelo y otros Ecosistemas Marinos, Conservación Internacional, WWF Colombia. Editorial Produmedios, Bogotá. 60p.

Camargo-Pastório, P. C. (2014). Respostas fisiológicas à hipóxia gradual em neonatos e juvenis da arraia cururu *Potamotrygon* cf. *histrix*. Dissertação Mestrado em Diversidade Biologica, Universidade Federal do Amazonas. 62 pp.

Charvet-Almeida, P., Goes, M.L., Rosa R.S. & Rincón, G. (2011). Las rayas de agua dulce neotropicales: la diversidad y el estado de conservación. [Activo enero de 2019].

Disponible en:http://potamotrygon.foroactivo.net/t8-las-rayas-de-agua-dulce-neotropicales-la-diversidad-y-estado-de-conservacion.

Clauss, T.M., Dove, A. D. M., & Arnold, J. E. (2008). Hematologic disorders of fish. The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice, 11, 445–462.

Grant, K. R. (2015). Fish hematology and associated disorders. Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice, 18(1), 83-103.

Fricke, R., Eschmeyer, W. N. &. Van der Laan R. (2019). Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species, references. Electronic version accessed 03 mar 2019

http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp

Harms, C., Ross, T. & Segars, A. (2002). Plasma biochemistry reference values of wild bonnethead sharks, *Sphyna tiburo*. Veterinary Clinical Pathology Santa Barbara, v. 31, n. 3, p. 111-115.

Lasso, C.A., R.S. Rosa, P. Sánchez-Duarte, M.A. Morales-Betancourt & E. Agudelo-Córdoba (Eds). (2013). IX. Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte I. Colombia, Venezuels, Ecuador, Perú, Brasil, Guyana, Surinam y Guayana Francesa: diversidad, bioecología, uso y conservación. Serie Editorial Recursos Hidrobiológios y Pesqueros Continentales de Colombia. Instituto de Investigación de los Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). Bogotá, D.C., Colombia. 368 pp.

Márquez-Velásquez, V. (2017). Avaliação da função ecológica da raia Potamotrygon magdalenae (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) em uma rede trófica dos andes colombianos. Tesis de maestría. Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas. 80 pp.

Madigan, D. J., Brooks, E. J., Bond, M. E., Gelsleichter, J., Howey, L. A., Abercrombie, D. L., Brooks, A. & Chapman, D. D. (2015). Diet shift and site-fidelity of oceanic whitetip sharks *Carcharhinus longimanus* along the Great Bahama Bank. Marine Ecology Progress Series, 529, 185-197.

Mejía-Falla, P.A., Pérez-Rojas, J.G., Gómez-Martínez, D., Muñoz-Osorio, L.A., Galindo, E., López-García, J., Pedreros, T.M., Fernández, G. & Navia, A.F. (2016). Avances en el conocimiento de *Potamotrygon magdalenae* (Dumeril, 1865), raya dulceacuícola

endémica de Colombia. En: Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte II: Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina. Serie Editorial Recursos Hidrobiológios y Pesqueros Continentales de Colombia. Instituto de Investigación de los Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). Bogotá, D.C., Colombia. 368 pp.

Mejía-Falla, P.A., Ramírez-Luna, V., Usma, J.S., Muñoz-Osorio, L.A., Maldonado-Ocampo, J.A., Sanabria, A.I. & Alonso, J.C. (2009). Estado del conocimiento de las rayas dulceacuícolas de Colombia. Cap. V, págs. 195-245. En: Puentes, V., A.F. Navia., P.A. Mejía-Falla, J.P. Caldas, M.C. Diazgranados & L.A. Zapata-Padilla (Eds). (2009). Avance en el conocimiento de tiburones, rayas y quimeras de Colombia. Fundación SQUALUS, Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, Instituto Colombiano Agropecuario, COLCIENCIAS, Conservación Internacional, WWF Colombia, 245p.

Oliveira, A.T., Lemos, J.R., Santos, M. Q., Araújo, M. L. G., Tavares-Dias, M., & Marcon, J. L. (2012). Procedimentos de manuseio e coleta sanguínea em arraias de água doce. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Amapá Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Oliveira, A.T., Santos, M.Q.D.C., de Araújo, M.L.G., de Lemos, J. R. G., Rejane, S. D. A., Aride, P. H. R., Pantoja-Lima, J., Tavares-Dias, M. & Marcon, J. L. (2016). Hematological parameters of three freshwater stingray species (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) in the middle Rio Negro, Amazonas state. Biochemical Systematics and Ecology, 69, 33-40.

Oliveira, A. T., Araújo, M. L. G., Lemos, J. R. G., Santos, M. Q. C., Pantoja-Lima, J., Aride, P. H. R., Tavares-Dias, M. & Marcon, J. L. (2017). Ecophysiological interactions and water-related physicochemical parameters among freshwater stingrays. Brazilian Journal of Biology, 77(3), 616-621.

Ranzani-Paiva, M. J. T. & Silva-Souza, A. (2004). Hematologia de peixes brasileiros. In: Ranzani-Paiva, M. J. T.; Takemoto, R. M.; Lizama, M. A. P. (Eds). Sanidade de Organismos Aquáticos. São Paulo: Varela, p. 89-120.

Rosa, R. (1985). An asystematic revision of the South American freshwater stingrays (Chondricthyes: Potamotrygonidae). Ph.D. Thesis, College of William and Mary, Williamsburg, Virginia. 524 p.

Semeniuk, C. A., Bourgeon, S., Smith, S. L., & Rothley, K. D. (2009). Hematological differences between stingrays at tourist and non-visited sites suggest physiological costs of wildlife tourism. Biological Conservation, 142(8), 1818-1829.

Shibuya, A. K. E. M. I., Araújo, M. D., & Zuanon, J. A. (2009). Analysis of stomach contents of freshwater stingrays (Elasmobranchii, Potamotrygonidae) from the middle Negro River, Amazonas, Brazil. Pan-American Journal of Aquatic Sciences, 4(4), 466-475.

Skomal, G. B., & Mandelman, J. W. (2012). The physiological response to anthropogenic stressors in marine elasmobranch fishes: a review with a focus on the secondary response. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 162(2), 146-155.

Speer-Roesch, B., Ip, Y.K. & Ballantyne, J.S. (2006). Metabolic organization of freshwater, euryhaline, and marine elasmobranchs: implications for the evolution of energy metabolism in sharks and rays. J. Exp. Biol. 206, 2495–2508.

Tavares-Dias, M. & Moraes, F.R. (2007). Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. Journal of Fish Biology 71, 383–388.

Trystram, C., Rogers, K. M., Soria, M., & Jaquemet, S. (2016). Feeding patterns of two sympatric shark predators in coastal ecosystems of an oceanic island. Canadian journal of fisheries and aquatic sciences, 74(2), 216-227.

Walsh, C. J. & Luer, C. A. (2004). Elasmobranch hematology: identification of cell types and practical applications. En: Smith, M.D., D. Warmolts, D. Thoney and R. Hueter (Eds). 2004. The elasmobranch husbandry manual: Captive care of sharks, rays and their relatives. Special publication of the Ohio Biological Survey. 589 p.

Wilhelm Filho, D., Eble, G. J., Kassner, G., Caprario, F. X., Dafré, A. L., & Ohira, M. (1992). Comparative hematology in marine fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 102(2), 311-321.

Zar, J. H. (1999). Biostatistical analysis. 1999. Upper Saddle River, NJ.

3. Capítulo 3: Descripción y análisis del comportamiento de la raya de río *Potamotrygon magdalenae* en condiciones de cautiverio

3.1. Resumen

La raya del Magdalena *Potamotrygon magdalenae*, es una especie endémica de la cuenca de los ríos Magdalena y Atrato en Colombia y recurso importante en el mercado de peces ornamentales. Sin embargo, aún no se conocen patrones de comportamientos de la especie ni en vida silvestre ni en cautiverio. Este trabajo se presenta como la primera aproximación a la descripción y análisis del comportamiento de la especie, con el fin de establecer una metodología clara y útil para las evaluaciones etológicas en rayas de agua dulce que permita entender cuáles son los comportamientos más comunes y usarlo para el diseño y evaluación de hábitats. Se construyó y usó análisis de video en tiempo real para identificar los comportamientos más frecuentes en machos y hembras, así como su duración. Un macho y una hembra se ubicaron en un tanque circular de 500 L y se observó y registró sus comportamientos minuto a minuto durante dos horas, en tres momentos del día. Dos tanques se registraron de forma simultánea en cada turno, durante cuatro días, en días con y sin alimentación y usando un observador por animal. Los resultados mostraron una mayor tasa de actividad en machos, siendo la exploración el comportamiento más frecuente, seguido del reposo. En el caso de las hembras, el reposo fue el comportamiento más frecuente, seguido de la exploración. Al analizar los datos según el tipo de día (con o sin alimento) los machos mostraron mayor frecuencia en el reposo en días con alimento, mientras la exploración fue el comportamiento más frecuente en días sin alimento. Para las hembras, el reposo representó el comportamiento más frecuente en ambos días. En conclusión, la implementación del análisis del etograma para *P. magdalenae* en cautiverio permite entender no sólo los comportamientos que más expresa la especie en condiciones de confinamiento, sino cuál o cuáles de ellos son los que mayor duración tienen. Estos resultados constituyen el primer acercamiento a la descripción de los comportamientos de la especie y servirán de insumo para mejorar las condiciones de mantenimiento en cautiverio de las rayas de río.

3.2. Introducción

El análisis del comportamiento representa un punto vital en la evaluación del bienestar de los animales y su capacidad de adaptación, pues de las condiciones del nuevo ambiente va a depender que los animales expresen sus comportamientos normales o generen nuevos en busca de la adaptación a ese nuevo medio (Martin & Bateson, 1993; Stamp, 2007). Alteraciones en el comportamiento normal de los animales disminuyen sus actividades vitales tales como comer, dormir, alimentarse, reproducirse, generando un detrimento en la calidad de vida de los individuos y en muchos casos inhabilidad para adaptarse a nuevos entornos, llevando incluso a la muerte.

En peces, Volpato *et al.* (2007) han propuesto que el estado de bienestar se alcanza cuando el pez está en condiciones de elegir, y lo hace basado en sus comportamientos normales. Para evaluar el bienestar en peces se ha planteado que la manera más efectiva es la implementación de test de preferencias, durante los cuales, los animales estén en libertad de elegir, entre varias opciones de alguna variable que sea de interés: alimento, hábitat, compañía, entre otros. Estos test suelen estar acompañados de la descripción de los comportamientos de los animales (etograma), con el fin de comprender como se desenvuelven los individuos bajo determinadas condiciones.

El estudio del comportamiento de tiburones y rayas se ha abordado principalmente con poblaciones en vida silvestre, abordando temas como alimentación o depredación (Lowe *et al.*, 1996; Heithaus *et al.*, 2002; Skomal *et al.*, 2015), uso de hábitat y movimientos (Klimley *et al.*, 2002; Branco-Nunes *et al.*, 2016), comportamientos reproductivos (Tricas *et al.*, 2000; Pratt & Carrier, 2001), comportamiento post captura (Gallagher *et al.*, 2016; Hyatt *et al.*, 2016; Bouyoucos *et al.*, 2017), comportamiento y ecoturismo (Gallagher *et al.*, 2015; Berthe & Lecchini, 2016), ecología del comportamiento (Wilson *et al.*, 2015; McCauley *et al.*, 2016; Finger *et al.*, 2018), comportamiento en cautiverio (Mayorga-León & Ramos-Baquero, 2001; Ezcurra *et al.*, 2017) entre otros.

Para rayas de agua dulce es poco lo que se conoce sobre su comportamiento, siendo esta una disciplina incipiente y resaltándose las publicaciones sobre comportamiento de alimentación (Garrone-Neto & Sazima, 2009; Shibuya *et al.*, 2012), comportamiento reproductivo (Wren & Fletcher, 2001), orientación espacial (Schluessel *et al.*, 2015) y aprendizaje social (Thonhauser *et al.*, 2013).

El etograma se refiere a la descripción de las conductas y comportamientos (estados y eventos) innatos de los animales en el sistema en que habitan (Martin & Bateson, 1993; Stamp, 2007). Constituye el punto de origen de cualquier estudio de comportamiento debido a que es específico, no solo de la especie sino de las condiciones en las que habiten. En ese sentido, constituye el patrón de referencia con el cual es posible evaluar los comportamientos “normales” de los animales mantenidos en condiciones similares y permite identificar y caracterizar sus comportamientos.

Potamotrygon magdalenae es una especie endémica de Colombia, restringida a las cuencas de los ríos Magdalena, Cauca, Atrato, Catatumbo y San Jorge (Mejía-Falla *et al.*, 2009; Caldas *et al.*, 2010). Esta especie se caracteriza por ser carnívora entomófaga, con una preferencia marcada por larvas de dípteros, quironómidos y efemerópteros. Se desconoce información sobre sus hábitos de comportamiento en ambientes silvestres debido a la naturaleza de las aguas que habita (fondos lodosos y arenosos, aguas oscuras y con alta turbidez) y la imposibilidad de observación y seguimiento de los animales. Por lo tanto, el presente trabajo constituye el primer acercamiento a la descripción y análisis de los comportamientos de la especie.

Los protocolos de manejo y reproducción en cautiverio pueden ser utilizados como estrategias de conservación. Sin embargo, el desconocimiento de los patrones de comportamiento de la especie, tanto en vida silvestre como en cautiverio ha dificultado la estandarización de este tipo de protocolos, reduciendo las capacidades de mantener en cautiverio, y bajo condiciones óptimas de bienestar este tipo de organismos. A la fecha, se resaltan los primeros trabajos enfocados al análisis de aclimatación, crecimiento y reproducción en cautiverio de *P. magdalenae* en condiciones de cautiverio como pioneros en la generación de conocimiento para mejorar el manejo de la especie en ambientes confinados (Pérez-Rojas *et al*, 2015; Mejía-Falla *et al.,* 2016). Este trabajo se presenta como la primera aproximación al análisis del comportamiento de la especie, cuyo objetivo fue establecer una metodología adecuada para las evaluaciones etológicas en rayas de agua dulce que permita determinar los comportamientos más comunes

de la especie, y así aportar elementos básicos para el diseño y evaluación de hábitats en rayas de agua dulce.

3.3. Métodos

3.3.1. Animales experimentales

Los individuos evaluados provinieron de la zona media del río Magdalena y todos fueron adultos (n=11). Los ejemplares fueron aclimatados durante cuatro años a condiciones de cautiverio y presentaban eventos reproductivos de forma permanente. Para la elaboración del etograma, dos machos y dos hembras fueron seleccionados, teniendo en cuenta que presentaran tallas (ancho de disco; AD) y pesos similares. Se evitó usar hembras que tuvieran signos evidentes de preñez con el fin de disminuir el efecto de este estado sobre el comportamiento de los animales.

3.3.2. Sistema experimental

Este sistema lo constituyeron dos tanques de polipropileno de 113 cm de diámetro, 46 cm de altura y 500 L de capacidad. Con el fin de mantener la calidad de agua y el soporte de vida, se diseñaron y construyeron dos sistemas de recirculación de agua iguales, con módulos de filtración mecánica, biológica, calefacción y aireación (Fig.1). Cada sistema se conectó a uno de los tanques para garantizar tanto la calidad de agua, como la temperatura (28-30°C) y la disponibilidad de oxígeno (5-7 mg/L, >60% de saturación). Un análisis previo de la calidad de agua no mostró diferencias significativas entre los tanques, por lo que se asumieron como dos repeticiones independientes. Los tanques se ubicaron bajo techo y toda el área de experimentación y mantenimiento de los animales se cubrió con malla de sombrío del 60% para evitar el afloramiento de algas en los tanques y facilitar el manejo del agua en los mismos (Fig. 1). Sin embargo, la luz entró de forma natural y se cumplió un fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad.

Para la observación y registro de datos se diseñó y construyó un sistema de observación remoto en tiempo real (SOR) a partir de cámaras de vídeo de alta definición con conexión a internet (iP HD). Se ubicó una cámara encima de cada uno de los tanques de observación y a su vez, cada una de ellas se conectó a un enrutador usando cables Ethernet (Fig. 2a,b). Usando el software Vstarcam se estableció una estación de observación en la que se pudo monitorear y registrar los comportamientos de los animales (Fig. 2c). Este sistema tuvo como intención evitar la influencia del observador sobre el comportamiento de los animales evaluados.

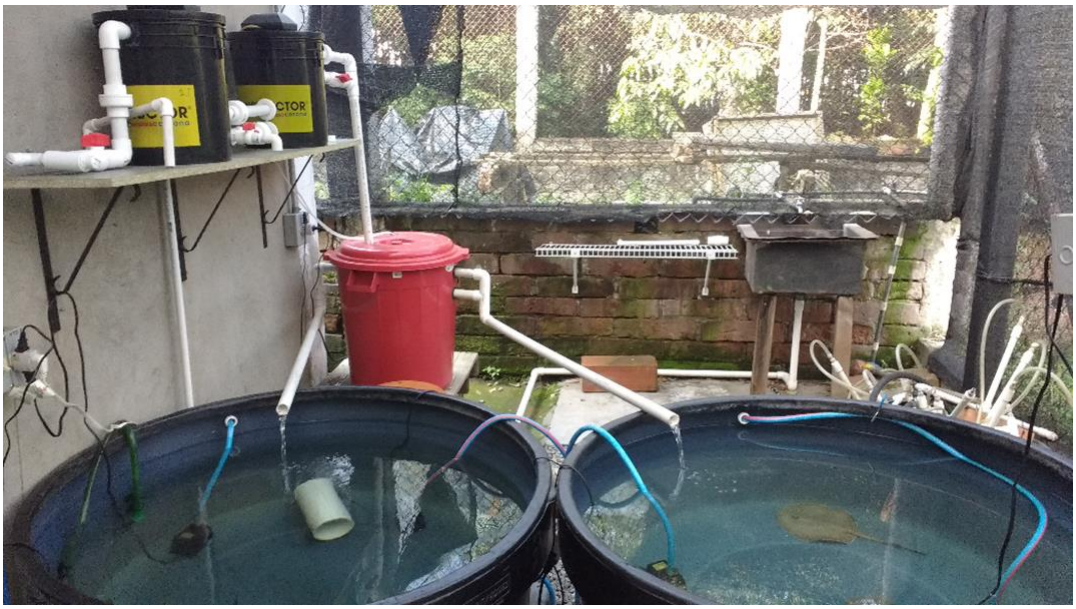


Figura 1. Sistema de recirculación de agua diseñado y construido como hábitat de *Potamotrygon magdalenae* en el Laboratorio de Modelación Animal, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín.

Figura 2. Sistema de observación en tiempo real. a-b: Cámaras IP HD para observación remota. c: Detalle del software Vstarcam para observación de comportamientos de *Potamotrygon magdalenae*

3.3.3. Método de evaluación

- **Determinación de pautas de comportamiento**

Con el fin de identificar los diferentes comportamientos exhibidos por la especie en el sistema evaluado, se llevaron a cabo una serie de experiencias piloto usando el SOR. En una fase inicial se establecieron unidades de comportamiento basados en las observaciones realizadas por Pérez-Rojas *et al.* (2016). Durante los pilotos, se refinaron las categorías de comportamiento previamente establecidas y se entrenaron los observadores en la identificación y registro de los mismos. Se buscó que las unidades de comportamiento elegidas no fueran demasiado pequeñas (poco significado) ni tan grandes que pudieran generar mucha variabilidad en la observación (Mayorga-León & Ramos-Baquero, 2001). Así mismo, se realizó entrenamiento para establecer la concordancia entre los evaluadores en la observación de los comportamientos y se estableció un 80% de acuerdo entre una pareja como ítem para la elección de las mismas.

- **Método de muestreo y registro**

Un macho y una hembra fueron ubicados en cada tanque, los machos presentaron un ancho de disco (AD) promedio de 15,5 cm y 280 g de peso (W) promedio, mientras las hembras tuvieron un AD promedio de 21,5 cm y un peso promedio de 550 g. El registro de los comportamientos se realizó durante cuatro días consecutivos, suministrando alimento día de por medio (lombriz roja californiana viva a razón de 10% biomasa animal), esto con el fin de evaluar la influencia del alimento sobre el comportamiento. Para analizar el efecto de la hora del día, la observaciones se realizaron en tres intervalos de tiempo entre las 8:00 y las 18:00 de la siguiente forma: 8:00-10:00, 12:00-14:00 y 16:00-18:00.

Cada observador monitoreó de forma focal un individuo asignado registrando de forma continua, minuto a minuto y por espacio de 120 minutos, todos los comportamientos observados. Las observaciones se realizaron al mismo tiempo para los dos tanques, razón por la cual en cada turno de registro se usaron cuatro observadores de forma simultánea.

3.3.4. Análisis de datos

A partir de los datos obtenidos se evaluó, a partir de estadística descriptiva, la frecuencia de los comportamientos y la proporción de tiempo destinada en cada uno de ellos. Para la frecuencia de comportamientos se realizaron histogramas de frecuencia generales por sexo con el fin de establecer cuáles de los comportamientos observados fueron más comunes en machos y en

hembras. Esto mismo se hizo discriminando entre días con y sin alimento y según la hora del día.

Para la proporción de tiempos destinados a cada comportamiento se realizó un tratamiento previo de los datos obtenidos, transformándolos a porcentaje de tiempo destinado a cada comportamiento siguiendo lo propuesto por Martin y Bateson (1993). Con los datos transformados se realizaron gráficas de pastel para los resultados generales por sexo así como discriminando entre días con y sin alimento y según la hora del día.

3.4. Resultados

3.4.1. Etograma de *Potamootrygon magdalenae* en cautiverio

Se identificaron 15 comportamientos diferentes en *P. magdalenae* en cautiverio, 10 de los cuales se decidió incluir dentro del modelo de las categorías de comportamiento con el fin de ser registrados y evaluados (Fig. 3). Dos comportamientos se clasificaron como de función poco aparente (deslizamiento vertical y movimiento errático) y tres fueron excluidos del análisis por ser observaciones aisladas no frecuentes (mordisqueo-cortejo, olfateo y cópula).

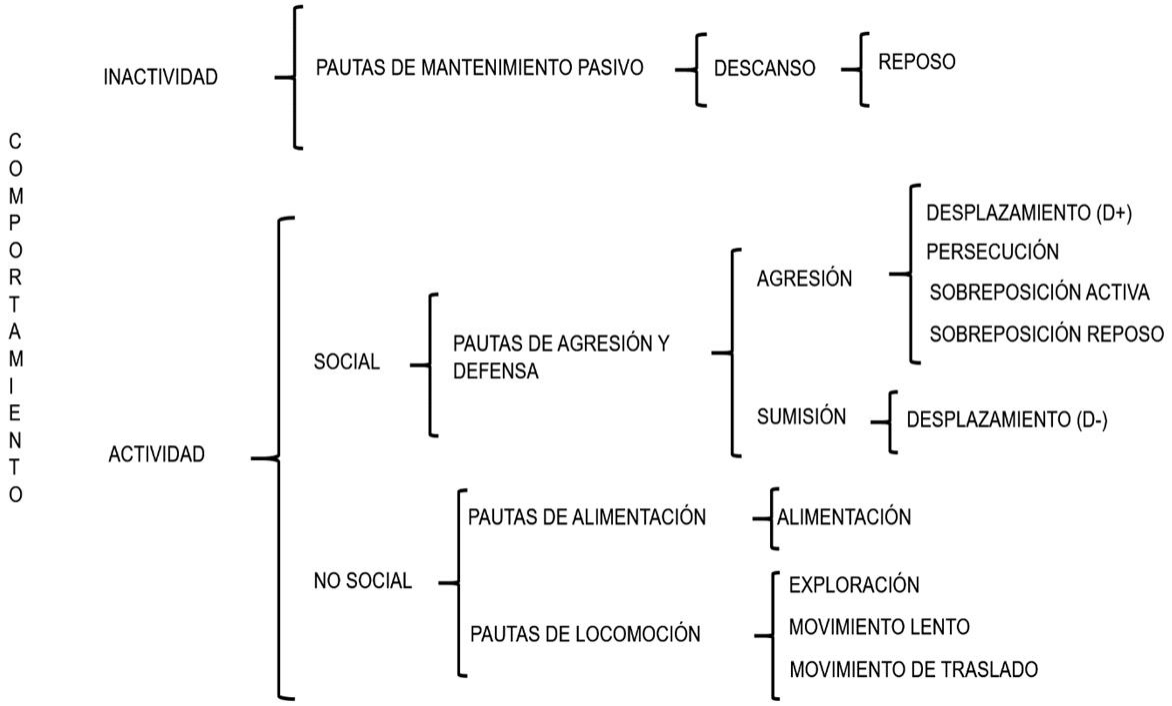


Figura 3. Modelo de las categorías de comportamiento para *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio

- **Comportamientos incluidos en los análisis de comportamiento**

- **Inactividad**

- Mantenimiento pasivo

Hace referencia a un tipo de comportamiento asociado con el descanso de los animales y se categorizó como reposo (R).

Reposo: El animal permanece quieto en un punto del tanque por más de cinco segundos. No tiene límite de tiempo. Se diferencia entre el reposo (R) y el reposo con interacción (Ri) porque en el segundo existe un contacto entre los animales, bien sea del disco o la cola.

- **Actividad**

- Social

En esta categoría se agruparon los comportamientos que involucraron interacción entre los animales e involucró pautas de agresión y sumisión.

- Agresión

Se observaron cuatro comportamientos catalogados dentro de este grupo: Desplazamiento positivo (D+), persecución (P), sobreposición (SA) y sobreposición en reposo (SR). Se catalogaron como comportamientos de agresión porque el individuo observado ejercía el comportamiento sobre el otro individuo.

Desplazamiento positivo: Se consideró positivo pues el individuo observado ejercía el desplazamiento sobre el otro (desplazante). En él, un individuo se acercaba a otro y ocupaba su espacio resultando esto en el desplazamiento y reubicación de quien recibía el comportamiento, sin un seguimiento del primero al segundo.

Persecución: Similar al anterior, en él el individuo observado seguía a su compañero de tanque a donde fuera que este se moviera bien fuera en un desplazamiento pegado al fondo del tanque o en natación a media agua.

Sobreposición activa: El individuo observado se posaba encima de su compañero de tanque poniendo por completo o solamente una parte del disco mientras este se encontraba realizando un movimiento pegado al fondo del tanque y no se separaba por un mínimo de dos segundos.

Sobreposición en reposo: Se observaba el mismo comportamiento descrito previamente, con la variante de que en este caso el compañero de tanque se encontraba en reposo.

- Sumisión

Desplazamiento negativo (D-): Se consideró negativo cuando el individuo observado era desplazado por el compañero de tanque (desplazado) y debía reubicarse en otro espacio del tanque.

- No social

En esta categoría se agruparon los comportamientos que no involucraron interacción entre los animales e involucraron pautas de alimentación y locomoción.

- Alimentación

Alimentación (A): Sólo observable en días de suministro de alimento debido a la ausencia de otras presas dentro del tanque. Se observó un acercamiento y encorvamiento del disco sobre la comida, acompañado de movimientos de masticación caracterizados por la contracción del disco y el aumento en la frecuencia de apertura y cierre de los espiráculos (respiración). Se distingue la variante alimentación con interacción (Ai) cuando existió contacto entre los animales, con cualquier parte del cuerpo, al momento de la alimentación.

- Locomoción

Agrupó tres comportamientos de traslado y movimiento de los animales. Se reconocieron la exploración (E), el movimiento lento (ML) y el movimiento de traslado (MT).

Exploración (E): Desplazamiento activo y rápido del individuo por movimiento ondulatorio de todo el disco, bien fuera en el fondo del tanque o en natación a media agua. Se observaba al individuo haciendo un barrido del espacio sin detenerse. Se distingue la variante exploración con interacción (Ei) cuando existió contacto entre los animales durante la expresión del comportamiento.

Movimiento lento (ML): Desplazamiento del individuo por movimiento de las aletas pélvicas en lo que se observaba como una especie de “caminata”. Este movimiento se observó por lo general para un re acomodo desde una posición de reposo o traslado por el tanque sin detenerse en un sitio particular. Cuando el animal observado tuvo contacto con su compañero de tanque, se determinó como movimiento lento con interacción (MLi)

Movimiento de traslado (MT): El individuo se encontraba en reposo en un punto y se observaba una reubicación sin ser producto de la influencia aparente del compañero de tanque. Por lo general este comportamiento se reconoció porque el individuo se movía de un punto de reposo a otro ya fuera usando el movimiento ondulatorio del disco o el movimiento de las aletas pélvicas. Cuando el animal observado tuvo contacto con su compañero de tanque, se determinó como movimiento de traslado con interacción (MTi)

- **Comportamientos con función poco aparente**

Estos comportamientos corresponden a actividad de los animales que no fue posible identificar con un propósito en particular para este estudio, sin embargo se incluyen con el fin de hacer la descripción de los mismos.

Desplazamiento vertical: El individuo observado se subía por las paredes pegando su cuerpo al tanque hasta dejar una parte de su rostro por fuera del agua, con movimiento hacia arriba y posteriormente dejándose caer lentamente al fondo del tanque nuevamente.

Movimiento errático: El animal se movía repetidamente de un lado a otro en dirección horizontal haciendo una especie de vaivén. Observado principalmente durante los test de preferencia.

- **Comportamientos excluidos del análisis**

Estos comportamientos se consideran de suma importancia por la naturaleza reproductiva que presentaron, sin embargo sólo se observaron una vez. Incluye tres comportamientos raros y muy poco frecuentes de mordisqueo-cortejo, olfateo y cópula.

Mordisqueo-cortejo: Realizado por parte del macho a la hembra. Se caracterizó por presentar mordiscos en la zona final del disco, cerca de la cola y sobre la pelvis. Unido a persecución de la hembra por todo el espacio del tanque.

Olfateo: El macho se acercaba a la hembra, se posaba encima de ella y acercaba su hocico a unos, o todos, de los siguientes lugares de ella: detrás de los ojos, pelvis, aletas pélvicas.

Cópula: Se observó como el aumento notable de la actividad de macho (frenesí), mientras perseguía a la hembra por todo el tanque, mientras la mordía. Cuando esta cedió, el macho se puso debajo de ella y se dió la introducción de uno de sus cláspers en la cloaca de la hembra.

3.4.2. Frecuencia y proporción de tiempo destinado a los comportamientos en *Potamotrygon magdalenae*

El análisis del etograma general de machos y hembras mostró una dominancia de comportamientos de reposo (R, Ri) y exploración (E, Ei) en ambos sexos (Fig. 4a). Para las hembras, se observó que R y Ri fueron los comportamientos más observados, presentando una frecuencia muy similar, mientras que para los machos, los comportamientos más frecuentes fueron E, R y ML (Fig. 4a). El comportamiento SA fue observado más frecuentemente en machos que en hembras. Las hembras mostraron muy baja frecuencia de P en comparación con los machos, mientras D+ fue similar entre sexos y D- fue más frecuente en hembras. ML y MLi fueron más frecuentes que MT y MTi para ambos sexos (Fig. 4a).

Al analizar la proporción de tiempo, se encontró que los machos fueron más activos que las hembras, pasando el 28% del tiempo en comportamientos asociados al reposo, el 26% en asociados a la exploración y el 24% en asociados a movimientos lentos, representando el 78% del tiempo total de observación (Fig. 4b). En el caso de las hembras, estas pasaron más de la mitad del tiempo (52%) en comportamientos de reposo seguido de un 24% del tiempo en exploraciones con y sin interacción (Fig. 4c).

Los machos estuvieron más activos en los días que no se ofertó alimento, siendo E, ML y SA los comportamientos más frecuentes. Igualmente, se observó un mayor número de SA por parte de este sexo en días sin alimento, situación similar a lo encontrado con las persecuciones (Fig. 5a). Durante estos días, el 54% del tiempo los machos estuvieron haciendo comportamientos asociados a movilidad (E, Ei, ML, MLi), pasando sólo un 25% de su tiempo en reposo (Fig. 5b).

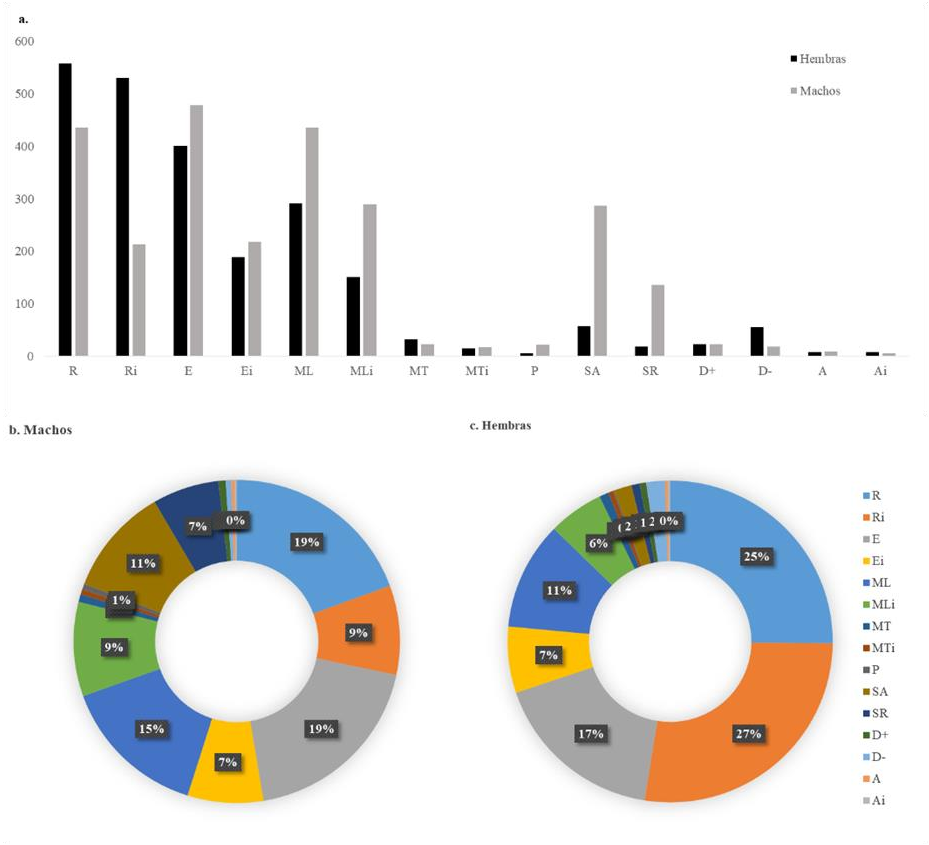


Figura 4. Etograma general de *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio. a) Frecuencia de expresión de los comportamientos. b) Proporción de tiempo para los comportamientos de los machos. c) Proporción de tiempo para los comportamientos de las hembras. Comportamientos: R: Reposo; Ri: Reposo con interacción; E: Exploración; Ei: Exploración con interacción; ML: Movimiento lento; MLi: Movimiento lento con interacción; MT: Movimiento de traslado; MTi: Movimiento de traslado con interacción; P: Persecución; SA: Sobreposición activa; SR: Sobreposición en reposo; D+: Desplazante; D-: Desplazado; A: Alimentación; Ai: Alimentación con interacción

Sin alimento, R y Ri fueron los comportamientos más frecuentes en las hembras seguido de E y ML (Fig. 6a). Durante estos días, se observó una mayor frecuencia en D- por parte de los machos hacia las hembras. El 55% del tiempo se observó a las hembras en comportamientos de reposo (R, Ri), mientras los comportamientos más representativos de movilidad (E, Ei, ML, MLi) representaron el 38% del tiempo durante este tipo de días (Fig. 6b).

Por su parte, los días de alimentación presentaron un aumento en la frecuencia de R, D- y SR, mostrándose así un aumento en el descanso. El reposo con interacción y D+ no presentaron cambios de frecuencia significativos entre los dos tipos de día (Fig. 5a). Con alimento, los machos aumentaron la proporción de tiempo de comportamientos de reposo (R, Ri; 50%) y disminuyeron a 43% el tiempo destinado en movilidad (Fig. 5c). Se observó igualmente una disminución de 13% a 2% de tiempo en SA entre los días en que no se presentó alimento y los que sí (Fig. 5 b, c).

Con alimento, se observó un aumento de la frecuencia en E y disminución de Ri, sin embargo, los comportamientos más expresados en las hembras siguieron siendo los reposos, independientemente de ser días con o sin alimentación (Fig. 6a). Por su parte, se registró un aumento importante de ML con la alimentación, así como mayores cantidades de SA. El tiempo de reposo (R, Ri) tuvo una disminución del 5%, porcentaje que se aumentó en los comportamientos de movilidad (E, Ei, ML, Mli). Igualmente, se observó un aumento en el porcentaje de tiempo de ML entre días sin y con alimentación (Fig. 6b, c).

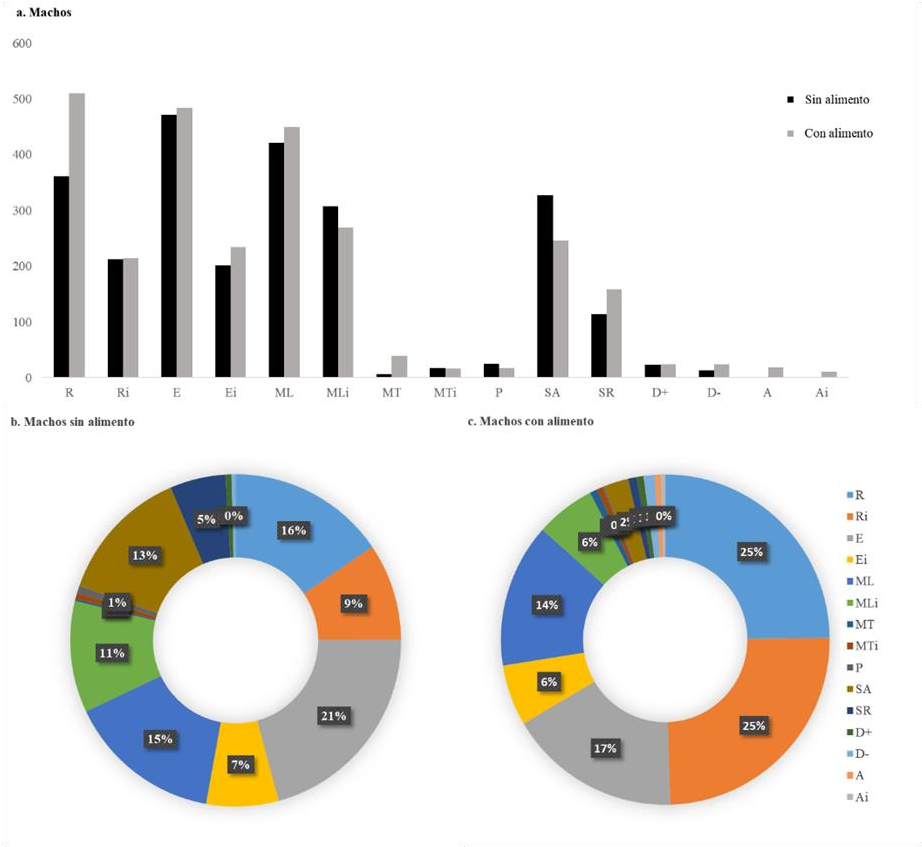


Figura 5. Etograma de machos de *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio en días con y sin alimento. a) Frecuencia de expresión de los comportamientos en días con y sin alimento. b)

Proporción de tiempo para los comportamientos en días sin alimento. c) Proporción de tiempo para los comportamientos en días con alimento. Comportamientos: R: Reposo; Ri: Reposo con interacción; E: Exploración; Ei: Exploración con interacción; ML: Movimiento lento; MLi: Movimiento lento con interacción; MT: Movimiento de traslado; MTi: Movimiento de traslado con interacción; P: Persecución; SA: Sobreposición activa; SR: Sobreposición en reposo; D+: Desplazante; D-: Desplazado; A: Alimentación; Ai: Alimentación con interacción.

En cuanto al período de tiempo, se observó que los machos tuvieron una mayor frecuencia de sobreposiciones (SA y SR) en las horas de la mañana (8:00-10:00), siendo SA el comportamiento más frecuente durante este tiempo (Fig. 7a). Este horario estuvo representado por pocos reposos y exploraciones, sin embargo, al evaluar la proporción de tiempo de los comportamientos, se observó que se divide de forma similar entre reposos (R, Ri; 28%), sobreposiciones (SA, SR; 27%) y movimientos lentos (ML, MLi; 24%), observándose así la mayor frecuencia de interacción con las hembras a través de sobreposición (Fig. 7 a, b).

Hacia el mediodía (12:00-14:00) se observó un cambio en la dinámica de comportamiento de este sexo y su forma de interacción con las hembras, observándose una disminución en la frecuencia de SA coincidente con un aumento de E y ML (Fig. 7a). Durante este intervalo de tiempo, los comportamientos exploratorios (E, Ei) aumentaron de un 18% observado en las mañanas, a un 31 %, mientras SA pasó de 17% a 9% (Fig. 7c). Igualmente, durante este período de tiempo se observó un aumento en la frecuencia y porcentaje de tiempo de ML (Fig. 7a, c) y un aumento en la proporción de MLi coincidente con una disminución en su frecuencia, observándose así menos MLi pero con mayor duración (Fig. 7a, c).

En horas de la tarde (16:00-18:00) se observó que los machos aumentaron notablemente la frecuencia y duración de los comportamientos de reposo, llegando estos a representar el 34% del tiempo en este sexo (Fig. 7a, d). Por su parte, los comportamientos de exploración no presentaron cambios muy notables en su frecuencia y duración entre el intervalo de tiempo anterior y el aquí mencionado. Se observó que SA cae hasta un 2 % en este período de tiempo (Fig. 7a, d).

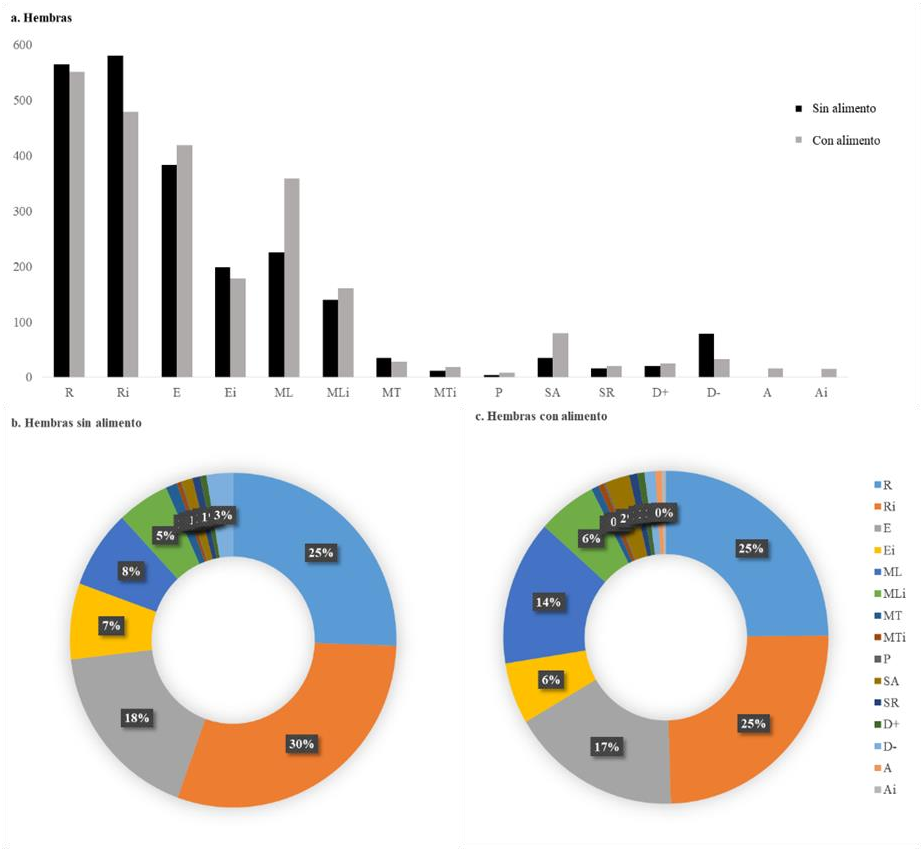


Figura 6. Etograma de hembras de *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio en días con y sin alimento. a) Frecuencia de expresión de los comportamientos en días con y sin alimento. b) Proporción de tiempo para los comportamientos en días sin alimento. c) Proporción de tiempo para los comportamientos en días con alimento. Comportamientos: R: Reposo; Ri: Reposo con interacción; E: Exploración; Ei: Exploración con interacción; ML: Movimiento lento; MLi: Movimiento lento con interacción; MT: Movimiento de traslado; MTi: Movimiento de traslado con interacción; P: Persecución; SA: Sobreposición activa; SR: Sobreposición en reposo; D+: Desplazante; D-: Desplazado; A: Alimentación; Ai: Alimentación con interacción

Las hembras, por su parte, mostraron en la mañana (8:00-10:00) una mayor frecuencia de Ri, seguido de R y comportamientos asociados a movimientos lentos (ML, MLi) acompañado de pocas exploraciones y la mayor frecuencia de D- observados en el día (Fig. 8a). Durante este intervalo se observó que pasaron el 60% del tiempo en reposo, dominado principalmente por Ri (38%), con sólo un 12% del tiempo destinado a comportamientos de exploración (E, Ei) y un 20% del tiempo en ML (Fig. 8b).

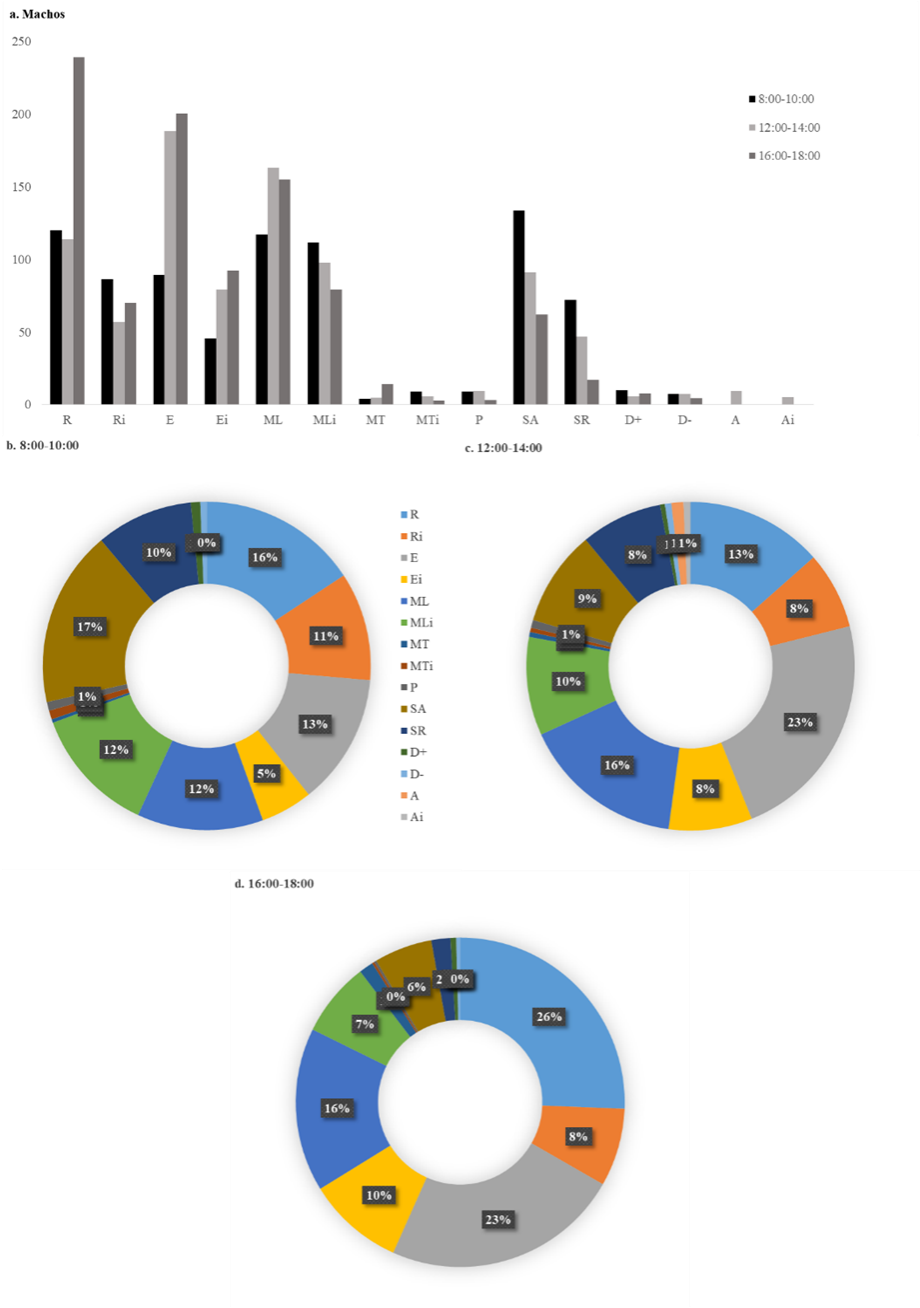


Figura 7. Etograma de machos de *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio en diferentes períodos de tiempo. a) Frecuencia de expresión de los comportamientos en tres períodos del día. b) Proporción de tiempo para los comportamientos entre las 8:00 y las 10:00. c) Proporción de tiempo para los comportamientos entre las 12:00 y las 14:00. d) Proporción de tiempo para los comportamientos entre las 16:00 y las 18:00. Comportamientos: R: Reposo; Ri: Reposo con interacción; E: Exploración; Ei: Exploración con interacción; ML: Movimiento lento; MLi: Movimiento lento con interacción; MT: Movimiento de traslado; MTi: Movimiento de traslado con

interacción; P: Persecución; SA: Sobreposición activa; SR: Sobreposición en reposo; D+: Desplazante; D-: Desplazado; A: Alimentación; Ai: Alimentación con interacción.

Hacia el mediodía (12:00-14:00) se registró un aumento en la frecuencia de actividad de exploración (E, Ei) unido a una disminución en la frecuencia de Ri (Fig. 8a). De esta forma, se encontró que los comportamientos de exploración aumentaron a un 32% del tiempo, mientras los reposos disminuyeron a un 48% del tiempo con relación a lo observado en el primer intervalo (Fig. 8b). Durante este intervalo las hembras se registraron más activas en cuanto a la frecuencia de exploración, sin embargo se siguió observando que destinan una mayor cantidad de tiempo a comportamientos de reposo con y sin interacción. Los desplazamientos (D-) disminuyeron en este intervalo, coincidiendo con la disminución de SA observada en machos (Fig. 7b).

Al caer la tarde (16:00-18:00) se observó que las hembras mantuvieron la frecuencia de exploraciones realizadas, mientras aumentó levemente la cantidad de R. Movimiento lento presentó un aumento de frecuencia a medida que pasó el día, mostrando una tendencia de este sexo a aumentar la frecuencia de actividad con el transcurrir de las horas (Fig. 8a). Sin embargo, al analizar los comportamientos en términos de la proporción de tiempo, se encontró que los reposos (R, Ri) no tuvieron una mayor variación, respecto al intervalo anterior (12:00-14:00), representando el 47% del tiempo (Fig. 8c), tendencia igualmente observada para las exploraciones (E, Ei).

3.5. Discusión

En el presente trabajo se creó el etograma de *P. magdalenae* en condiciones de cautiverio, información que se constituye en el primer acercamiento a la descripción y análisis etológico de esta especie de raya de agua dulce. Los análisis de frecuencia y proporción de tiempo de los comportamientos identificados en el etograma permitieron establecer que los machos son animales mucho más activos que las hembras, siendo los comportamientos de actividad los más frecuentes y a los que mayor cantidad de tiempo se destinó. Mientras las hembras, se caracterizaron por ser animales con un menor nivel de actividad, estando mayormente representado su etograma por comportamientos de inactividad.

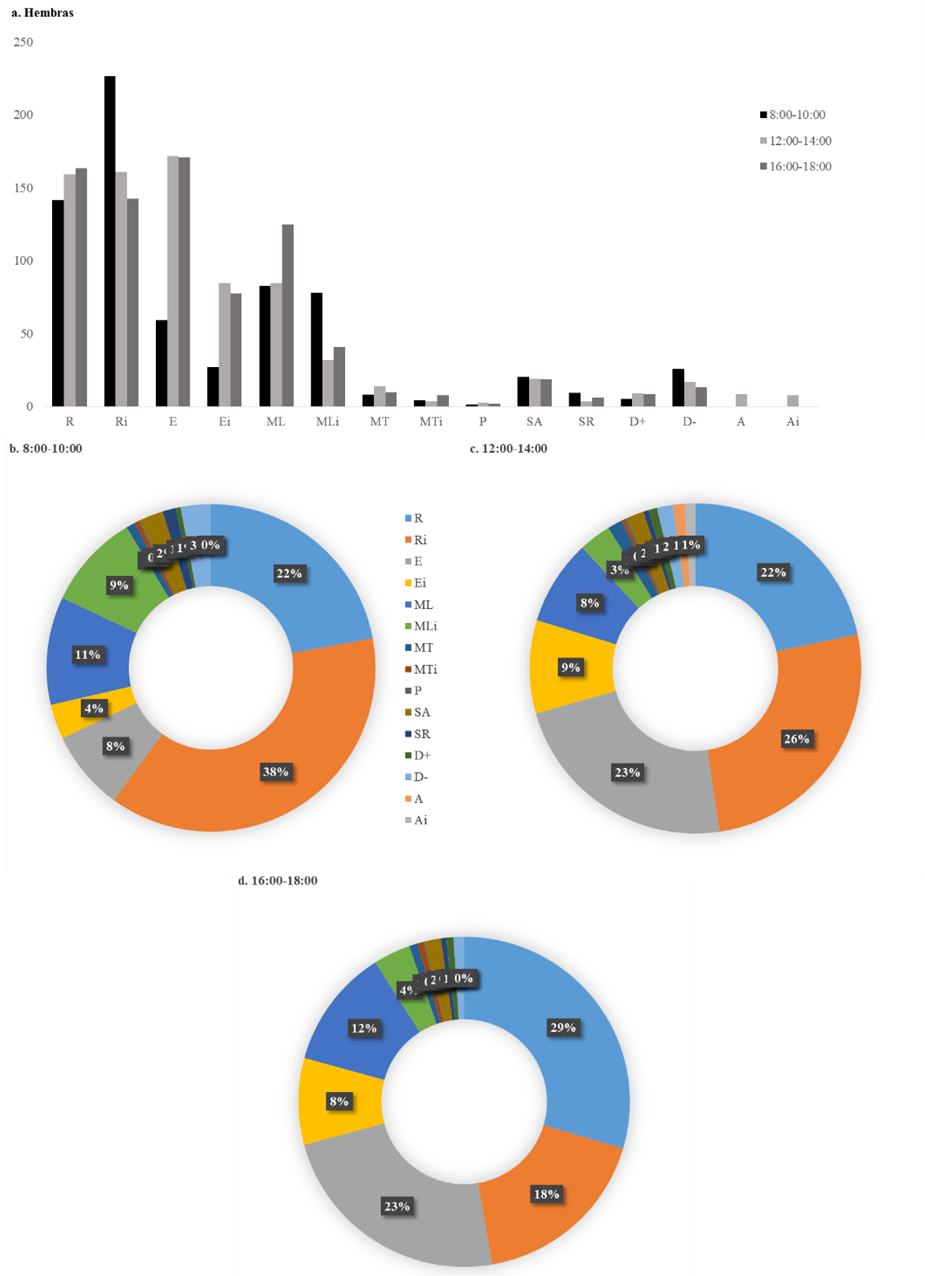


Figura 8. Etograma de hembras de *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio en diferentes períodos de tiempo. a) Frecuencia de expresión de los comportamientos en tres períodos del día. b) Proporción de tiempo para los comportamientos entre las 8:00 y las 10:00. c) Proporción de tiempo para los comportamientos entre las 12:00 y las 14:00. d) Proporción de tiempo para los comportamientos entre las 16:00 y las 18:00. Comportamientos: R: Reposo; Ri: Reposo con interacción; E: Exploración; Ei: Exploración con interacción; ML: Movimiento lento; MLi: Movimiento lento con interacción; MT: Movimiento de traslado; MTi: Movimiento de traslado con

interacción; P: Persecución; SA: Sobreposición activa; SR: Sobreposición en reposo; D+: Desplazante; D-: Desplazado; A: Alimentación; Ai: Alimentación con interacción

Así mismo, es posible concluir que los machos son animales más activos en comportamientos que involucran interacción y buscan constantemente a las hembras y alrededor de su hábitat, mientras que las hembras parecen sólo explorar lo necesario y permanecer más tiempo en descanso. En las primeras horas del día, donde las hembras pasan más tiempo en reposo, hubo la mayor presencia de D-, coincidiendo con períodos altos de actividad con interacción en los machos, sin embargo, con el pasar de las horas este comportamiento tiende a disminuir a medida que los machos se enfocan más en exploraciones solitarias que en interacción con el sexo opuesto. Sin embargo, llama la atención que los comportamientos más representativos para ambos sexos fueron los asociados a reposo (R, Ri) y exploración (E, Ei), presentando en todos los casos evaluados la mayor frecuencia y proporción de tiempo.

Estos resultados pueden estar relacionados con el hecho de que las rayas de agua dulce son animales que se caracterizan por permanecer enterradas en el sustrato en el que habitan y realizar desplazamientos en búsqueda de nuevos lugares de alimentación o refugio (Ross, 2004; Lasso *et al.*, 2016). Este comportamiento natural podría ser lo que se observó durante la elaboración de este estudio y la razón por la que la exploración y el reposo fueron los comportamientos más observados. Más aun teniendo en cuenta que *P. magdalenae* habita aguas turbias con fondos lodosos, alimentándose principalmente de larvas de insectos (Ramos-Rocha, 2010; Mejía-Falla *et al.*, 2014; Márquez-Velásquez, 2017) y capturando sus presas en sustratos de arena y lodo donde habitan, características ecológicas que podrían explicar los comportamientos observados.

El aumento en los niveles de actividad en machos y la permanencia de los reposos como comportamientos más representativos en hembras, observados durante los días sin alimentación, sugiere diferencias en el comportamiento entre sexos. Era de esperarse que en días sin alimentación los niveles de actividad de los animales aumentaran, pudiendo esto relacionarse con la búsqueda y necesidad de alimento, sin embargo, esto sólo se observó en los machos. Estos resultados podrían ser un indicador de diferencias metabólicas y requerimientos nutricionales entre sexos, pudiendo los machos necesitar una mayor frecuencia de alimentación en comparación con las hembras. Aunque la dieta y preferencias alimentarias de la especie se encuentran descritas, y se ha establecido que no hay diferencias entre sexos con los tipos de

presas consumidas para la especie (Mejía-Falla *et al.*, 2014; Márquez-Velázquez, 2017), no existe ningún trabajo relacionado con la descripción del comportamiento alimentario en vida silvestre, esto es, frecuencia de alimentación y cantidad de alimento ingerido. Por tanto es necesaria la implementación de estudios con el fin de establecer si estos resultados de frecuencias de comportamientos se repiten en este tipo de ambientes. Igualmente, establecer las tasas metabólicas en cada uno de los sexos de la especie resulta vital con el fin de entender su influencia sobre la expresión de comportamientos.

Los resultados obtenidos en los intervalos de observación entre las 8:00 y las 18:00 permitieron observar poca influencia del momento del día en el comportamiento de las hembras, observándose poca actividad en horas de la mañana, con algunos aumentos de esta hacia el mediodía y la tarde. Si bien es cierto que al pasar el día se encontró un aumento en la frecuencia de las exploraciones, principalmente solitarias (sin interacción), en proporción de tiempo, los reposos continuaron siendo los comportamientos más representativos en las hembras, conservándose aún su proporción entre el segundo y tercer intervalo de tiempo. En contraste, los machos mostraron en las mañanas mucha interacción con las hembras, al mediodía un aumento en los comportamientos exploratorios, y en la tarde un aumento del reposo sin disminuir mucho sus exploraciones, pero si haciendo esto con las sobreposiciones, lo cual demostró presentaron altas tasas de actividad a lo largo del día, pero variando el tipo de actividad representativa en su etograma.

Estos resultados confirman las diferencias previamente mencionadas en los niveles de actividad entre sexos y muestra un patrón interesante de altos niveles de interacción durante la mañana por parte de los machos hacia las hembras, mientras al pasar el día estos mantienen su frecuencia de actividad pero pasan a hacer exploraciones más solitarias hasta que cae la tarde y aumentan la frecuencia de reposo. Aunque se ha reportado que algunas especies de potamotrigónidos son más activas en las noches (Garrone-Neto *et al.*, 2012), es necesario realizar observaciones nocturnas de *P. magdalenae* con el fin de confirmar si es una característica compartida igualmente por esta especie. Así mismo, estudios de uso de movimiento y uso de hábitat en vida silvestre permitirían establecer si los patrones de actividad observados en machos en cautiverio son similares a lo observado en vida silvestre.

Aunque se identificaron un total de 15 unidades de comportamiento en las condiciones estudiadas, solo 10 fueron incluidas en el análisis. Dos comportamientos se catalogaron con función poco aparente y otros tres se excluyeron de los análisis por ser observaciones aisladas de mordisqueo-cortejo, olfateo y cópula. Al analizar y comparar estos tres comportamientos con lo encontrado en *Urobatis jamaicensis* en cautiverio (Mayorga-León & Ramos-Baquero, 2001), se encontró que ese tipo de estrategias de cortejo son iguales. De igual forma, el mordisqueo como comportamiento de cortejo se ha documentado en rayas de agua dulce (Wren & Fletcher, 2001) y otros elasmobranquios marinos, tales como *Hypanus americanus*, la cual se ha observado siendo cortejada con comportamientos similares (Obs pers.).

En cuanto a los comportamientos de función poco aparente, desplazamiento vertical y el movimiento errático, Mayorga-León & Ramos-Baquero (2001) reportan el primero como un posible síntoma de presencia de parásitos intestinales y la necesidad de los animales de rascarse contra las paredes del hábitat. Sin embargo, la ausencia de exámenes diagnósticos sobre esto en la especie aquí trabajada, no permite establecer si su expresión tiene relación con l mencionado por estos autores.

El movimiento errático, recibió su nombre de la incapacidad de encontrarle un motivo aparente, así como por observarse de una forma repetitiva, llegando inclusive a asemejarse con una estereotipia (Mason 2006). En elasmobranquios es muy poco lo que se conoce sobre este tipo de alteración etológica pero se reconoce que ciertas especies de gran tamaño (e.j. *Rhincodon typus*) mantenidas en confinamiento pueden desarrollar estereotipias en sus patrones de natación si no se hace un proceso adecuado de enriquecimiento ambiental en su hábitat (Sabalones *et al.*, 2004). Por su parte Mayorga-León & Ramos-Baquero (2001) reportan un comportamiento de movimiento alterado de un lado al otro del acuario en individuos de *U. jamaicensis*, relacionándose con lo observado para *P. magdalenae* en este trabajo. Sin embargo, para el diagnóstico de las estereotipias debe realizarse un estudio independiente, y por lo tanto no es posible asegurar que los individuos analizados en este estudio la hubieran desarrollado, pues no se cuenta con la evidencia de ello. Sin embargo, la observación del movimiento errático aquí reportado debe ser un precedente para la ejecución de evaluaciones etológicas en que permitan establecer la presencia o no de este fenómeno en cautiverio para rayas de agua dulce.

Finalmente, los resultados obtenidos en el presente estudio permitirán mejorar los diseños de hábitats y enriquecimiento ambiental de *P. magdalenae* en cautiverio al tener en cuenta los comportamientos propios de la especie, y de cada sexo, dentro de ello. Por ello, para mejorar el mantenimiento y bienestar de la especie en acuarios se sugiere que los hábitats que combinen ambos sexos se caractericen por la presencia de sustrato arenoso donde las rayas puedan enterrarse, así como por tener amplios espacios con lugares de exploración para favorecer los comportamientos de los machos y la presencia de estructuras artificiales que provean resguardo para favorecer los comportamientos de reposo de las hembras.

3.6. Referencias

Branco-Nunes, I., Veras, D., Oliveira, P., & Hazin, F. (2016). Vertical movements of the southern stingray, *Dasyatis americana* (Hildebrand & Schroeder, 1928) in the Biological Reserve of the Rocas Atoll, Brazil. Latin American Journal of Aquatic Research, *44*(2), 216-227.

Bouyoucos, I.A., Suski, C.D., Mandelman, J.W., & Brooks, E.J. (2017). The energetic, physiological, and behavioral response of lemon sharks (*Negaprion brevirostris*) to simulated longline capture. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 207, 65-72.

Berthe, C., & Lecchini, D. (2016). Influence of boat noises on escape behaviour of white-spotted eagle ray *Aetobatus ocellatus* at Moorea Island (French Polynesia). Comptes rendus biologies, 339(2), 99-103.

Caldas, J.P., E. Castro-González, V. Puentes, M. Rueda, C. Lasso, L.O. Duarte, M. Grijalba-Bendeck, F. Gómez, A.F. Navia, P.A. Mejía-Falla, S. Bessudo, M.C. Diazgranados y L.A. Zapata (Eds.). (2010). Plan de Acción Nacional para la Conservación y Manejo de Tiburones, Rayas y Quimeras de Colombia (PAN Tiburones-Colombia). Instituto Colombiano Agropecuario, Secretaría Agricultura y Pesca San Andrés Isla, Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, Instituto Alexander Ven Humboldt, Universidad del Magdalena, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Pontificia Universidad Javeriana, Fundación SQUALUS, Fundación Malpelo y otros Ecosistemas Marinos, Conservación Internacional, WWF Colombia. Editorial Produmedios, Bogotá. 60p.

Connell, C.P., Hyun, S.Y., Gruber, S.H., & He,P. (2015). Effects of barium-ferrite permanent magnets on great hammerhead shark *Sphyrna mokarran* behavior and implications for future conservation technologies. Endangered Species Research, 26(3), 243-256.

Ezcurra, J.M., Lowe, C.G., Mollet, H.F., Ferry, L.A., Murray, M.J., & O'Sullivan, J.B. (2017). Biology of the White Shark (*Carcharodon carcharias*) in Aquaria. The Elasmobranch Husbandry Manual II.

Finger, J.S., Guttridge, T.L., Wilson, A.D.M., Gruber, S.H., & Krause, J. (2018). Are some sharks more social than others? Short-and long-term consistencies in the social behavior of juvenile lemon sharks. Behavioral ecology and sociobiology, 72(1), 17.

Freedman, R., Espinoza, M., Voss, K.M., Farrugia, T., Whitcraft, C.R., & Lowe, C.G. (2017). Does Estuary Restoration Design Alter the Fine Scale Movements of Gray Smoothhounds (*Mustelus californicus*) in Southern California?. Bulletin, Southern California Academy of Sciences, 116(2), 88-98.

Gallagher, A.J., Vianna, G.M., Papastamatiou, Y.P., Macdonald, C., Guttridge, T.L., & Hammerschlag, N. (2015). Biological effects, conservation potential, and research priorities of shark diving tourism. Biological Conservation, 184, 365-379.

Gallagher, A.J., Staaterman, E.R., Cooke, S.J., & Hammerschlag, N. (2016). Behavioural responses to fisheries capture among sharks caught using experimental fishery gear. Canadian journal of fisheries and aquatic sciences, 74(1), 1-7.

Garrone-Neto, D., & Sazima, I. (2009). Stirring, charging, and picking: hunting tactics of potamotrygonid rays in the upper Paraná River. Neotropical Ichthyology, 7(1), 113-116.

Garrone Neto, Domingos, & Uieda, Virgínia Sanches. (2012). Activity and habitat use of two species of stingrays (Myliobatiformes: Potamotrygonidae) in the upper Paraná River basin, Southeastern Brazil. Neotropical Ichthyology, 10(1), 81-88.

Heithaus, M.R., & Dill, L.M. (2002). Food availability and tiger shark predation risk influence bottlenose dolphin habitat use. Ecology, 83(2), 480-491.

Hyatt, M.W., Anderson, P.A., & O'Donnell, P.M. (2016). Behavioral release condition score of bull and bonnethead sharks as a coarse indicator of stress. Journal of Coastal Research, 32(6), 1464-1472.

Klimley, A. P., Beavers, S. C., Curtis, T. H., & Jorgensen, S. J. (2002). Movements and swimming behavior of three species of sharks in La Jolla Canyon, California. Environmental biology of fishes, 63(2), 117-135.

Lasso, C. A., Rosa, R. S., Sánchez-Duarte, P., Morales-Betancourt, M. A., & Agudelo-Córdoba, E. (2016). IX. Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica Parte II: Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Brasil, Guyana, Surinam y Guayana Francesa: diversidad, bioecología, uso y conservación.

Lowe, C.G., Wetherbee, B.M., Crow, G.L., & Tester, A.L. (1996). Ontogenetic dietary shifts and feeding behavior of the tiger shark, *Galeocerdo cuvier*, in Hawaiian waters. Environmental Biology of Fishes, 47(2), 203-211.

Márquez-Velásquez, V. (2017). Avaliação da função ecológica da raia Potamotrygon magdalenae (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) em uma rede trófica dos andes colombianos. Tesis de maestría. Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas. 80 pp.

Mason G J (2006) Stereotypic behaviour in captive animals: fundamentals and implications for welfare and beyond EN: Mason G J and Rushen J (Eds.) Stereotypic Animal Behaviour. Fundamentals and Applications to Welfare, 2ª Ed. CAB International, Wallingford.

Martin, P., Bateson, P.P.G., & Bateson, P. (1993). Measuring behaviour: an introductory guide. Cambridge University Press.

Mayorga León, S.L., Baquero, R., & Adriana, A. (2001). Observaciones del comportamiento de la raya *Urobatis jamaicensis* (Cuvier, 1816; Rajiformes: Urolophidae) en condiciones de cautiverio acuario Mundo Marino, Santa Marta y Oceanario Islas del Rosario, Cartagena. Tesis de pregrado, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano.

McCauley, D.J., DeSalles, P.A., Young, H.S., Gardner, J.P., & Micheli, F. (2016). Use of high-resolution acoustic cameras to study reef shark behavioral ecology. Journal of experimental marine biology and ecology, 482, 128-133.

Mejía-Falla, P.A., V. Ramírez-Luna, J.S. Usma, L.A. Muñoz-Osorio, J.A. Maldonado-Ocampo, A.I. Sanabria y J.C. Alonso. (2009). Estado del conocimiento de las rayas dulceacuícolas de Colombia. Cap. V, págs. 195-245. En: Puentes, V., A.F. Navia., P.A. Mejía-Falla, J.P. Caldas, M.C. Diazgranados y L.A. Zapata-Padilla (Eds). 2009. Avance en el conocimiento

de tiburones, rayas y quimeras de Colombia. Fundación SQUALUS, Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, Instituto Colombiano Agropecuario, COLCIENCIAS, Conservación Internacional, WWF Colombia, 245p.

Mejía-Falla, P.A., L.A. Muñoz-Osorio, E. Galindo, J. López, J.G. Pérez-Rojas y A.F. Navia. (2014). Informe técnico de la evaluación de la dinámica pesquera y la distribución de *P. magdalenae* en la cuenca del Magdalena y aportes a su historia de vida. Documento técnico AUNAP-CI. 58 pp.

Mejía-Falla, P.A., Pérez-Rojas, J.G., Gómez-Martínez, D., Muñoz-Osorio, L.A., Galindo, E., López-García, J., Pedreros, T.M., Fernández, G. & Navia, A.F. (2016). Avances en el conocimiento de *Potamotrygon magdalenae* (Dumeril, 1865), raya dulceacuícola endémica de Colombia. En: Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte II: Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina. Serie Editorial Recursos Hidrobiológios y Pesqueros Continentales de Colombia. Instituto de Investigación de los Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). Bogotá, D.C., Colombia. 368 pp.

Pérez-Rojas, J.G., Navia, A.F. y Mejía-Falla, P.A. (2015). Efecto de la temperatura sobre el crecimiento ex situ de la raya de río *Potamotrygon magdaleane*. Informe final, programa Joven Investigador COLCIENCIAS.

Pérez-Rojas, J.G., Yepes-Luna, K. y Tarazona, A.M. 2016. Comportamiento en cautiverio de la raya del Río Magdalena *Potamotrygon magdalenae*. En: Memorias V Congreso Internacional de Acuicultura Continental, Universidad de las Fuerzas Armadas, Sangolquí, Ecuador, ISSN 1390-7360.

Pratt, H.L., & Carrier, J.C. (2001). A review of elasmobranch reproductive behavior with a case study on the nurse shark, *Ginglymostoma cirratum*. Environmental Biology of Fishes, 60(1-3), 157-188.

Ramos-Socha, H. (2010). Algunos aspectos biológicos de la raya de agua dulce Potamotrygon magdalenae (Dumeril, 1865) (Chondrichthyes: Myliobatiformes) en la ciénaga de Sabayo, Guaimaral, Magdalena, Colombia. Trabajo de Grado, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Facultad de Ciencias Naturales, Programa de Biología Marina, Santa Marta. 80 pp.

Ross, R. (2004). Chapter 31: Husbandry of freshwater stingrays of the family Potamotrygonidae. En: Smith, M.D., D. Warmolts, D. Thoney and R. Hueter (Eds). 2004. The elasmobranch husbandry manual: Captive care of sharks, rays and their relatives. Special publication of the Ohio Biological Survey. 589 p.

Sabalones, J.U.A.N., Walters, H.A.N.S., & Rueda, C.A.B. (2004). Learning and behavioral enrichment in elasmobranchs. The Elasmobranch Husbandry Manual: Captive Care of Sharks, Rays and Their Relatives, 169-182.

Schluessel, V., Herzog, H., & Scherpenstein, M. (2015). Seeing the forest before the trees–spatial orientation in freshwater stingrays (*Potamotrygon motoro*) in a hole-board task. Behavioural processes, 119, 105-115.

Shibuya, A., Zuanon, J., & Tanaka, S. (2012). Feeding behavior of the Neotropical freshwater stingray *Potamotrygon motoro* (Elasmobranchii: Potamotrygonidae). Neotropical Ichthyology, 10(1), 189-196.

Skomal, G. B., Hoyos-Padilla, E. M., Kukulya, A., & Stokey, R. (2015). Subsurface observations of white shark *Carcharodon carcharias* predatory behavior using an autonomous underwater vehicle. *Journal of fish biology*, *87*(6), 1293-1312.

Thonhauser, K.E., Gutnick, T., Byrne, R.A., Kral, K., Burghardt, G.M., & Kuba, M.J. (2013). Social learning in Cartilaginous fish (stingrays *Potamotrygon falkneri*). Animal cognition, 16(6), 927-932.

Tricas, T.C., Maruska, K.P., & Rasmussen, L.E.L. (2000). Annual cycles of steroid hormone production, gonad development, and reproductive behavior in the Atlantic stingray. General and comparative endocrinology, 118(2), 209-225.

Volpato, G.L. (2007). Methodological concerns on preference tests for assessment of fish welfare. Revista Brasileira de Zootecnia, 36, 53-61.

Wilson, A. D., Brownscombe, J. W., Krause, J., Krause, S., Gutowsky, L. F., Brooks, E. J., & Cooke, S. J. (2015). Integrating network analysis, sensor tags, and observation to understand shark ecology and behavior. Behavioral Ecology, 26(6), 1577-1586.

Wren, S., & Fletcher, A. (2001). Investigation of behavioural interaction within freshwater stingrays (*Potamotrygon motoro*) at Chester Zoo. In Proceedings of the 3rd Annual Symposium on

Zoo Research, Chester Zoo, Chester, UK, 9-10th July 2001 (pp. 173-183). The North of England Zoological Society.

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1. Conclusiones

Se estableció que, una vez superada la fase de aclimatación y aceptación de alimento vivo (lombriz roja californiana), la especie pudo desarrollarse adecuadamente, indicando que los protocolos aplicados y los sistemas de recirculación diseñados y construidos en este estudio fueron óptimos para mantener un adecuado nivel de bienestar en el aspecto físico de los animales.

Se confirmó que el factor de condición es una variable sencilla de estudiar y útil en el monitoreo de la condición de estos animales; y que, usada dentro de un programa de monitoreo, provee información importante para el seguimiento del crecimiento de los animales, ajustes a las raciones o tipos de dieta, evaluación de la ganancia de talla y peso y, sobre todo, para su uso informativo sobre el grado de bienestar.

La caracterización hematológica de *P. magdalenae* permitió confirmar la ausencia de diferencias entre sexos en cuadros hemáticos y análisis de química sanguínea, característica común para las rayas de agua dulce, así como la presencia de todos los tipos de células de la serie blanca descritos para rayas de agua dulce, con excepción de los neutrófilos. Igualmente, se concluye que esta especie parece tener valores similares de Hb, Ht y glucosa, menores de RBC y mayores de VCM, VMH, CMCH y número promedio de leucocitos, en comparación con otros potamotrigonidos estudiados a la fecha. Mientras que los valores de úrea, colesterol y triglicéridos son en algunos casos mayores y en otros menores a lo reportado para otras especies de rayas de agua dulce.

La ausencia de valores de referencia tanto para *P. magdalenae*, como para las otras especies de rayas de agua dulce evaluadas a la fecha, dificulta la comparación de resultados y el establecimiento de condiciones de salud de animales en cautiverio, a partir de variables hematológicas. Por lo tanto, se concluye que estudios de caracterización de estas variables en vida silvestre, y de ser posible en cautiverio, son vitales y necesarios para el desarrollo de herramientas de monitoreo de bienestar a partir de análisis sanguíneos.

El desarrollo de metodologías SOR para la descripción del comportamiento de la especie en cautiverio se presenta como un resultado altamente valioso para su implementación en acuarios institucionales o privados. A través de ellos es posible realizar un seguimiento del estado de las rayas, identificar eventos etológicos importantes como la cópula o los partos o monitorear el hábitat. Es por tanto que resultará una ventaja para quienes mantienen este tipo de animales en cautiverio. Igualmente, la metodología usada para la elaboración del etograma resultó clara y útil para las evaluaciones etológicas en rayas de agua dulce pues permitió identificar los comportamientos más frecuentes y con mayor duración.

Se estableció que los machos son más activos que las hembras y presentan mayor frecuencia en comportamientos que involucran interacción y exploración alrededor de su hábitat, mientras que las hembras parecen sólo explorar lo necesario y permanecen más tiempo en reposo. Esta información permitirá mejorar los diseños de hábitats y enriquecimiento ambiental de *P. magdalenae* en cautiverio al tener en cuenta los comportamientos propios de la especie, y de cada sexo. Así, se concluye que acuarios con machos deberán tener un mayor espacio para exploración, mientras en las hembras la presencia de lugares de refugio y descanso son características de enriquecimiento ambiental deseables para aumentar el bienestar de los animales en cautiverio.

Los protocolos de manejo de la especie usados durante el estudio fueron adecuados para alcanzar una buena calidad de vida de los animales, inclusive lográndose la reproducción en cautiverio por primera vez en Colombia. Aunque no se cuenta con información comparativa de vida silvestre u otros ambientes de cautiverio, en general se observó que una vez aclimatados, los animales aceptaron con facilidad el alimento vivo ofertado, mostraron ganancia en talla y peso y libertad para la expresión de comportamientos propios de la especie, con excepción de enterrarse en el sustrato debido a la ausencia de este. Esta ausencia se debió principalmente a una estrategia para facilitar la observación del estado físico de las rayas, así como del seguimiento a las crías.

En conclusión, los resultados obtenidos en este estudio constituyen el punto de partida para el desarrollo e implementación de mayor investigación en el campo del bienestar animal de rayas de agua dulce en cautiverio. La caracterización de los tres aspectos fundamentales del bienestar animal (físico, fisiológico y etológico) permitió establecer la alta utilidad que pueden tener las evaluaciones holísticas en el monitoreo y mejoramiento de la calidad de vida de *P. magdalenae* en ambientes de confinamiento al identificar de forma más precisa los requerimientos específicos de esta especie y de esta forma disminuir la alta mortalidad observada en cautiverio. Sin embargo, el alcance de este estudio va más allá, pues abre las puertas a un nuevo campo de desarrollo científico en el que las evaluaciones de bienestar animal, tradicionalmente usadas en animales de producción, puedan incorporarse como una herramienta para establecer el estado de individuos y poblaciones de elasmobranquios en cautiverio y de esta forma contribuir al mejoramiento de la calidad de vida de estas especies.

4.2. Recomendaciones

La principal recomendación derivada de este trabajo es la generación de conocimiento sobre variables fisiológicas (constantes sanguíneas, química sanguínea, perfiles hormonales, entre otras) y etológicas en poblaciones silvestres, que permitan establecer parámetros de comparación para la evaluación del bienestar y calidad de vida de las poblaciones en cautiverio de rayas de agua dulce.

La alimentación con lombriz roja californiana es altamente aceptada por la especie, pero una vez aclimatada, se recomienda la inclusión de otros alimentos (pescado, camarón, entre otros) con el fin de mejorar los estados nutricionales. Igualmente, la ración de 10% biomasa tanque/semana usada durante el estudio, parece funcionar adecuadamente para mantener la especie en cautiverio, inclusive mostrando mejores estados corporales que en vida silvestre. Sin embargo, es necesario realizar estudios fisiológicos sobre tasas metabólicas entre sexos con el fin de confirmar si los machos requieren menores cantidades de alimento que las hembras.
Resulta altamente importante desarrollar estudios encaminados a determinar los requerimientos nutricionales de las especies de rayas de agua dulce y de esta forma diseñar dietas óptimas para el cautiverio de las mismas.

Se recomienda una alta atención en los procesos de aclimatación de la especie al confinamiento, fase crítica en donde las probabilidades de muerte son más altas. Para ello, se sugiere un alto monitoreo de la calidad de agua desde la captura de los animales en el medio silvestre, hasta la introducción de los mismos en acuarios, así como cambios muy pequeños en la temperatura del agua, la cual parece ser la variable más crítica para la especie.

Aunque se observó que una vez aclimatada, la especie posee una alta tolerancia a cambios de pH, OD, TDS, salinidad y alcalinidad, no se recomienda la alta variación de éstos en etapas de aclimatación, sugiriéndose mantener las condiciones lo más parecidas posibles a los lugares de captura. El monitoreo de compuestos nitrogenados, principalmente amonio y nitritos, resulta vital para el éxito en la aclimatación. Para ello, se recomienda hacer un gran énfasis en el diseño y montaje de los sistemas de soporte de vida y contar con buenos sistemas de filtración biológica, que garanticen la calidad de agua.

Es importante que la especie cuente con elementos de enriquecimiento ambiental en su hábitat *ex situ*, donde tengan acceso a sustrato arenoso que permita la expresión de comportamientos naturales como enterrarse durante el reposo. Así mismo, se recomienda que los machos cuenten con espacios para la exploración y natación debido a sus altos niveles de actividad, mientras las hembras tengan acceso a lugares de refugio y descanso en dónde posiblemente pasarán la mayor parte del tiempo. Se sugiere la evaluación de otras variables físicas tales como prevalencia de heridas y parásitos externos, así como el desarrollo de una escala de condición corporal que permita categorizar los estados de nutrición de los animales.

Resulta recomendable consolidar más información sobre cuadros hemáticos y química sanguínea que faciliten la determinación de los estados de salud de un ejemplar dado. Así mismo, se recomienda incluir el análisis de hormonas como herramienta para el monitoreo de ciclos reproductivos o estados nutricionales de los animales.

En el aspecto etológico, se recomienda la implementación de técnicas de estudio que faciliten acceder a información sobre movimientos y uso de hábitat de la especie en vida silvestre con el fin de identificar los patrones de movimiento y los requerimientos de área horizontal.

Teniendo en cuenta que este trabajo constituye la primera aproximación a la incorporación y uso del enfoque del bienestar animal en elasmobranquios en cautiverio, usando como modelo una raya de agua dulce, aún es mucha la información e investigación necesaria para llegar a desarrollar herramientas de valoración de bienestar global para estas especies. Es por ello que se recomienda profundizar en la promoción de este enfoque como una alternativa para la evaluación de poblaciones en cautiverio de tiburones y rayas.

A. Anexo: Resúmenes de trabajos presentados en eventos científicos

Evento: Congreso de Acuicultura Latinoamericano y del Caribe y VIII Congreso Colombiano de Acuicultura. Octubre 2018. Bogotá, Colombia.

Resumen 1: Modalidad oral

Aproximación del bienestar animal como una herramienta de evaluación de elasmobranquios en cautiverio

Jose Gabriel Pérez-Rojas*, Paola Andrea Mejía-Falla, Andrés Felipe Navia, Sandra Clemencia Pardo-Carrasco & Ariel Tarazona Morales

Las evaluaciones de bienestar animal (BA), las cuales incluyen aspectos físicos, fisiológicos y etológicos de los animales, se presentan como una opción interdisciplinaria para establecer el grado de vulnerabilidad de las especies en ambientes silvestres o de cautiverio. Aunque la ciencia del bienestar animal está muy desarrollada en algunos grupos biológicos, tales como los animales de producción, nosotros la presentamos como una opción innovadora para la evaluación de poblaciones de elasmobranquios en cautiverio, mantenidos principalmente con fines ornamentales y educativos. La Fundación SQUALUS y la Universidad Nacional de Colombia (UNAL) han desarrollado investigaciones enfocadas en incorporar este abordaje del BA como una herramienta en las evaluaciones de una población en cautiverio de la raya de río endémica *Potamotrygon magdalenae*, como un modelo de investigación usando una especie con alto interés comercial en el mercado ornamental de peces y cuyo hábitat se encuentra amenazado por procesos naturales y antrópicos. La investigación realizada en esta especie se ha enfocado en entender su proceso de aclimatación y adaptación al cautiverio, así como la influencia de este ambiente sobre su bienestar. En el aspecto físico, los animales han sido monitoreados con el fin de identificar heridas y enfermedades que puedan sufrir en cautiverio, así mismo, se ha realizado un seguimiento del factor de condición (K) de los animales, con el fin de establecer su condición en diferentes momentos de tiempo. Se realizó un diseño y evaluación del sistema de soporte vital específico para el tipo de animales. El crecimiento se evaluó en diferentes temperaturas, sin encontrarse diferencias significativas en las tasas de crecimiento bajo las condiciones experimentales usadas. Se obtuvo la reproducción exitosa de la especie en cautiverio por primera vez en Colombia. Sin embargo, el seguimiento del desempeño

reproductivo de la especie ha permitido identificar grandes retos, dificultades y oportunidades en el levante de los neonatos. Las constantes hematológicas se han usado como un indicador fisiológico y como un punto de inicio para establecer valores de referencia de la especie que puedan ser usados para el monitoreo y seguimiento de los animales en los acuarios. En los aspectos etológicos, usamos análisis de video en tiempo real para realizar la descripción del comportamiento de machos y hembras, así como la implementación de test de preferencias para sustrato, resguardo y alimento. En conclusión, la experiencia adquirida con el estudio de *P. magdalenae* bajo esta aproximación multidisciplinaria del BA, ha mostrado la importancia de una mayor exploración de este abordaje como una herramienta bastante útil para la evaluación de elasmobranquios en cautiverio.

Resumen 2: Modalidad oral

Etograma de la raya de río, *Potamotrygon magdalenae,* en condiciones de cautiverio

Jose Gabriel Pérez-Rojas, Paola Andrea Mejía-Falla, Andrés Felipe Navia, Sandra Clemencia Pardo-Carrasco & Ariel Tarazona Morales

La raya del Magdalena *Potamotrygon magdalenae*, es una especie endémica de la cuenca de los ríos Magdalena y Atrato en Colombia. Habita los cauces principales así como ciénagas, caños y quebradas; caracterizándose su hábitat por presentar fondos de arena y fango con aguas turbias, someras y cálidas. Es un recurso importante en el mercado de peces ornamentales y se encuentra en condición de vulnerabilidad debido a su comercio, transformación y contaminación de hábitat y su condición de endemismo. Protocolos de manejo y reproducción en cautiverio pueden ser estrategias de conservación, sin embargo, no se conocen patrones de comportamientos de la especie ni en vida silvestre ni en cautiverio. La falta de este tipo de información ha dificultado la estandarización de protocolos de mantenimiento y reproducción de esta especie en cautiverio, así como la estandarización de la manipulación de la especie manteniendo su bienestar. Este trabajo se presenta como la primera aproximación al análisis del comportamiento de la especie, con el fin de establecer una metodología clara y útil para las evaluaciones etológicas en rayas de agua dulce que permita entender cuáles son los comportamientos más comunes de la especie, y usarlo como suministro para el diseño y evaluación de hábitats en rayas de agua dulce.

Para realizar el etograma de la especie en cautiverio, se usó análisis de video en tiempo real con el fin de identificar los comportamientos más frecuentes en machos y hembras, así como su

duración. Dos animales (un macho y una hembra) se ubicaron en un tanque circular de 500 L y se observó y registró sus comportamientos minuto a minutos durante dos horas, en tres momentos del día (8:00-10:00; 12:00-14:00; 16:00-18:00). Dos tanques se registraron de forma simultánea en cada turno, durante cuatro días, en días con y sin alimentación y usando un observador por animal. Los resultados preliminares muestran mayor tasa de actividad en machos, siendo la exploración el comportamiento más frecuente en el etograma de este sexo, seguido del reposo y el movimiento lento. En el caso de las hembras, el reposo fue el comportamiento más frecuente, seguido de la exploración y el movimiento lento. Al analizar los datos según el tipo de día (con o sin alimento) los machos mostraron mayor frecuencia en el reposo en días con alimento, mientras la exploración fue el comportamiento más frecuente en días sin alimento. Para las hembras, el reposo representó el comportamiento más frecuente en ambos días. Para la duración, el 38% del tiempo los machos se encontraron en reposo y exploración, mientras en las hembras, estos mismos comportamientos representaron el 52% del tiempo.

En conclusión, la implementación del análisis del etograma para *P. magdalenae* en cautiverio permite entender no sólo los comportamientos que más expresa la especie en condiciones de confinamiento, sino cuál o cuáles de ellos son los que mayor duración tienen. Estos resultados constituyen el primer acercamiento a la descripción de los comportamientos de la especie y servirán de insumo para mejorar las condiciones de mantenimiento en cautiverio de las rayas de río.

Evento: III Sharks International. Junio 2018. Joao Pessoa, Brasil.

Resumen 1: Modalidad oral

Approach to animal welfare as an assessment tool for elasmobranchs

Jose Gabriel Pérez-Rojas, Paola Andrea Mejía-Falla, Andrés Felipe Navia, Sandra Clemencia Pardo-Carrasco and Ariel Tarazona Morales

Animal welfare assessment, which involves physical, physiological and ethological aspects of animals, presents an interdisciplinary option to establish the degree of vulnerability of species in their wild or captive environment. Although it is a highly developed science in other biological groups, we present it as an innovative and interesting option for assessments of wild and captive populations of elasmobranchs. The SQUALUS Foundation and the National University of Colombia (UNAL) had developed research focused on incorporating this concept as a tool in the

assessment of captive populations, using *Potamotrygon magdalenae* as research model. This is a species of freshwater stingray endemic to Colombia with high commercial interest as ornamental fish and whose habitat is threatened by natural and anthropic processes. The research carried out with this species has focused on understanding the processes of acclimatization and adaptation to captivity, as well as the influence of this type of environment on their welfare. At the physical aspect, the animals were monitored in order to identify injuries and diseases that they could suffer during the captivity. A specific life support system for freshwater stingrays was designed and evaluated. Growth was evaluated at different temperatures but no significant differences in growth rates were found under these conditions. Successful reproduction in this species was achieved in captivity for the first time in Colombia. Nevertheless, the evaluation of the reproductive performance allowed to identify great opportunities, challenges and difficulties in the newborn animals. Hematology was used as an indicator of physiological status in order to initiate the establishment of baselines for the species in captivity, which can be used for monitoring individuals traded or kept in aquariums. This is a first step to establish differences between animals in wildlife and in captivity and to understand how captivity processes can influence the physiological status of the individuals. Ethological aspects were evaluated using real time video technology in both ethogram description and preference tests for substrate type, food and shelter. Preliminary results showed higher activity rates in males, and both sexes tended to bury themselves in the sand and preferred to eat red worms followed by a diet of shrimp and fish. In conclusion, the experience acquired with the study of *P. magdalenae* under this multidisciplinary approach to animal welfare, highlights the importance of further exploration of the concept, as a useful tool for the assessment of elasmobranch populations in captivity and wildlife scenarios.

Keywords: Freshwater stingray, Potamotrygonidae, ethology, physiology, captivity.

Resumen 2: Modalidad póster

First approach to establish hematological parameters of the freshwater stingray *Potamotrygon magdalenae* in a captive environment

Jose Gabriel Pérez-Rojas, Paola Andrea Mejía-Falla, Andrés Felipe Navia, Ariel Tarazona Morales and Sandra Clemencia Pardo-Carrasco

This study aimed to characterize and compare hematologic and blood chemistry parameters of adult males and females of *Potamotrygon magdalenae*, an endemic freshwater stingray species and with high ornamental and commercial interest in Colombia. Blood was collected by branchial puncture from 11 captive stingrays, previously measured (Disc width, D_w) and weighted.

Hemogram (males = 4, females = 6) included: erythrocyte count, hematocrit, hemoglobin, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, thrombocyte count and differential leukocyte count. This last one included counts and percentages of leukocytes, heterophils, eosinophils, lymphocytes and monocytes. Blood chemistry (males = 5, females = 6) included the quantification of urea, triglycerides, plasma proteins, serum protein, glucose and cholesterol. Differences in all parameters between sexes were evaluated by a Mann-Whitney U test. Females were larger (20.3±1.29 cm D_w) and heavier (533.3±75.28 g) than males (15.3±0.57 cm D_w; 276±0.57 g). No differences were found between sexes in the evaluated variables, except for lymphocytes count, which was higher in males (p=0.042). Males had lower hematocrit values and higher leukocytes counts than females; however, one female showed the highest value of leukocytes count (10.140 leuko/μl), represented in a high count and percentage of heterophils (7503 hetero/μl; 74%). The same female had the lowest values of lymphocytes (2535 lympho/μl; 25%). Two other females showed high thrombocytes counts when compared with all females evaluated (11725 and 11760 thrombo/μl). One male presented high values of leukocytes count (10.140 leuko/μl), represented in a high count and percentage of lymphocytes (10221 lympho/μl; 88%). The absence of differences due to sex in hematological and chemical variables of the blood is a previously reported characteristic for several Potamotrygonid species. Further analyses are required in order to establish if some results were due to individual stress or health problems. The results obtained in this study constitute the first approach for the establishment of blood baselines of *P. magdalenae*, and will allow to evaluate its health status in captivity. However, it is necessary to increase the number of samples taken in captive animals, as well as to perform these analyzes on wildlife animals, in order to establish the normal reference values of the species and identify alterations in the blood physiology.

Keywords: Elasmobranch, batoids, physiology, haemogram, blood chemistry, leukocytes.

Evento: XIV Congreso Colombiano de Ictiología y V Encuentro de Ictiólogos Suramericanos. Agosto 2017. Cali, Colombia.

Resumen: Modalidad póster

Experiencias de reproducción *ex situ* de la raya de río *Potamotrygon magdalenae*

Pérez-Rojas J.G., Mejía-Falla P.A., Navia A.F. y Pardo-Carrasco S.C.

Resumen

Potamotrygon magdalenae presenta alta importancia comercial como recurso ornamental, así como altas tasas de mortalidad en dicha cadena comercial. Por ello, es importante evaluar su potencial reproductivo y establecer protocolos de reproducción en cautiverio como alternativa de manejo y conservación. Para tal fin, se evaluaron 11 reproductores, mantenidos en tanques de 500 L con sistema de recirculación de agua, entre julio de 2015 y junio de 2017. Se registraron 38 partos, con un total de 62 crías (29 machos y 33 hembras). La fecundidad uterina varió entre una y tres crías por parto con tallas de nacimiento entre 4,5 y 6,5 cm de ancho de disco (AD; media ± SD = 6,0 ± 0,3 cm) y pesos entre 8.5 y 10.5 g (10,0 ± 0,28). El periodo de gestación se estableció en tres meses (± 20 días), con intervalo entre partos entre tres y ocho meses y entre tres y seis partos por hembra. Se identificó que una misma hembra puede tener hasta tres partos en un mismo año. Estos resultados sugieren que *P. magdalenae* presenta un alto potencial reproductivo en cautiverio, pero con elevada mortalidad de las crías en el levante, especialmente durante los dos primeros meses. Lo que se convierte en el principal reto a futuro, para el establecimiento de programas de reproducción en cautiverio exitosos y rentables.

Palabras clave: cautiverio, comercio ornamental, conservación, Potamotrygonidae, potencial reproductivo.

Key words: Captivity, conservation, ornamental trade, Potamotrygonidae, reproductive potential

B. Anexo: Premios obtenidos en eventos científicos

Premio mejor presentación oral en Congreso de Acuicultura Latinoamericano y del Caribe y VIII Congreso Colombiano de Acuicultura. Octubre 2018. Bogotá, Colombia.

C. Anexo: Notas periodísticas publicadas

Nota 1:
Fuente: UNAL Medios, Medellín

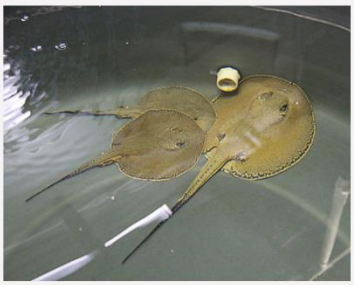
CIENCIA & TECNOLOGÍA

Exitosa reproducción en cautiverio de rayas de río

Es el primer registro de reproducción en condiciones de confinamiento de la especie Potamotrygon magdalenae, endémica de Colombia.

MEDELLÍN, 25 de mayo de 2017 – *Agencia de Noticias UN-*

EMAIL COMPARTIR IMPRIMIR



La reproducción de las rayas barranquilla se dio en el Laboratorio de Modelación Animal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la U.N. Sede Medellín. Fotos: Unimedios.

Investigadores del grupo Biodiversidad y Genética Molecular (Biogem) de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia (U.N.) Sede Medellín y la Fundación Colombiana para la Investigación y Conservación de Tiburones y Rayas (Squalus) consiguieron reproducir después de dos años las rayas barranquilla, como se les conoce popularmente, las cuales habitan la zona media del río Magdalena, cerca de La Dorada (Caldas).

Se trata de un logro inesperado, pues el objetivo inicial de la investigación de José Gabriel Pérez Rojas, estudiante de la Maestría en Ciencias Agrarias de la Sede, era implementar herramientas de valoración del bienestar animal a partir de la caracterización del estado físico, fisiológico y etológico (de comportamiento) de *Potamotrygon magdalenae* en cautiverio.
Sin embargo, "haber conseguido su reproducción es el resultado de un manejo idóneo dado a los animales, ya que se deben tener en cuenta necesidades como alimentación, bienestar fisiológico, confort en su medio y, además, deben estar sanos".

Para hacer los análisis se diseñó y construyó un sistema de recirculación de agua y filtrado de desechos orgánicos como residuos de alimentos y excrementos. El sistema garantiza que el hábitat conserve la cantidad de oxígeno necesario y la temperatura cálida –entre 28 y 30 °C–. Además, permite el tratamiento físico y químico del agua.

En la actualidad, las rayas habitan en cuatro tanques de 500 litros. En cada uno se encuentran dos hembras y un macho, con el fin de tener claridad sobre los padres de las crías. A uno de estos grupos lo acompañan siete rayas barranquillas de un mes de nacidas.

Como parte del manejo de las especie, se les está ofreciendo alimento día de por medio teniendo en cuenta su peso y necesidades nutricionales. El agua de los estanques debe permanecer con pH (grado de acidez) entre 6,5 y 8.

El sistema también incluye monitoreo mediante cámaras conectadas a internet, lo cual permite observar a las rayas en tiempo real desde cualquier lugar e incluso desde un celular. El seguimiento se hace durante 24 horas gracias a que las cámaras poseen visión infrarroja.

La estrategia se aplicó, según el investigador Pérez Rojas, porque el propósito es incidir lo menos posible en el comportamiento de las rayas.

Ventajas promisorias

El resultado del trabajo adelantado es el punto de inicio de una oportunidad para reducir la presión pesquera sobre las poblaciones silvestres de esta especie endémica, y para plantear estrategias de conservación.

También surgen retos y se amplían las perspectivas "acerca de lo que podría ser la oferta de animales que provengan de cautiverio en buenas condiciones que permitan entrar a las cadenas de mercado, ya que esta es una especie de interés comercial por ser ornamental".

De igual manera, señala el investigador Pérez Rojas, se trata de un paso para comprender el comportamiento y generar herramientas y protocolos de manejo necesarios para aumentar la supervivencia de la especie en acuarios.

A futuro y gracias al crecimiento de las crías, el estudio puede ser útil para entender aspectos de esta especie que hasta ahora no se conocen, como su comportamiento, sus preferencias de hábitat, las adaptaciones fisiológicas al cautiverio, y las tallas de madurez, sobre la cual, en vida silvestre, se ha encontrado variación dependiendo de la zona donde se encuentren.

La investigación es parte del trabajo de maestría, el cual es dirigido por Sandra Clemencia Pardo Carrasco, docente del Departamento de Producción Animal de la Facultad de Ciencias Agrarias.

Las rayas barranquilla

Según el Instituto Alexander von Humboldt, las rayas de río habitan en subcuencas del Caribe en los ríos Atrato y San Juan, y en la del río Magdalena. Allí se han colectado hembras de hasta 442 milímetros de ancho de disco y machos de hasta 323 milímetros de ancho de disco; las hembras son más grandes.

La raya barranquilla se alimenta principalmente de insectos, tienen cola larga y aletas pélvicas que generalmente están cubiertas por el disco, pliegues dorsales y ventrales, y coloraciones que pueden variar entre grisáceas y marrón, pero también pueden tener manchas o puntos.

(Por: fin/KAGG/dmh/LOF)

N.° 829

Nota 2:
Fuente: UNAL Medios, Medellín

VIDEO

Raya barranquilla se reprodujo en cautiverio

Después de dos años, los investigadores del grupo Biodiversidad y Genética Molecular (Biogem), de la Facultad de Ciencias Agrarias de la U.N. Sede Medellín, y la Fundación Colombiana para la Investigación y Conservación de Tiburones y Rayas (Squalus) consiguieron reproducir rayas barranquilla, las cuales habitan la zona media del río Magdalena, cerca de La Dorada (Caldas).

31 de mayo de 2017

EMAIL COMPARTIR IMPRIMIR

Por: Killy Gutiérrez Guzmán

Nota 3:
Fuente: UNAL Medios, Bogotá

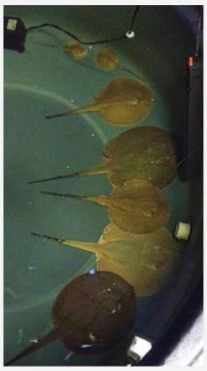
MEDIOAMBIENTE

Caracterizan rayas del Magdalena para mejorar su vida en cautiverio

El seguimiento tanto a la condición física y fisiológica como a su comportamiento permitirá adelantar un diagnóstico sobre la forma en que se adaptan las rayas de agua dulce a este ambiente, pionero en el país.

BOGOTÁ D. C., 30 de octubre de 2018 – *Agencia de Noticias UN-*

EMAIL COMPARTIR IMPRIMIR



La investigación busca garantizar una mejor calidad de la vida en cautiverio de esta especie de raya. Fotos: archivo particular

El estudio realizado por la Universidad Nacional de Colombia (U.N.) Sede Medellín y la Fundación Colombiana para la Investigación y Conservación de Tiburones y Rayas (Fundación SQUALUS), permitirá diseñar mejores hábitats, además de establecer un protocolo de cría en condiciones de reproducción adecuadas que garanticen la supervivencia de la especie, como lo demuestra haber logrado su primera reproducción en cautiverio.

Esta investigación, cuya presentación fue destacada con el primer puesto del Congreso de Acuicultura Latinoamericano y del Caribe 2018, estuvo dirigida por la doctora Sandra Clemencia Pardo Carrasco, docente del Departamento de Producción Animal, y se llevó a cabo en el Laboratorio de Modelación Animal (LAMA).

"El objetivo de este trabajo es contribuir a ampliar los conocimientos sobre la única especie endémica de raya de agua dulce cuya presencia es habitual en el mercado ornamental", explica el estudiante José Gabriel Pérez Rojas, de la Maestría en Ciencias Agrarias.

Ya que esta especie registra una elevada tasa de mortalidad por las condiciones a las que es sometida en estos mercados, la investigación pretende que sus condiciones de vida mejoren y que se determinen mecanismos de adaptación para darle mejores condiciones de hábitat.

Potamotrygon magdalenae es una raya que habita las cuencas de los ríos Magdalena y Atrato; se caracteriza porque no pone huevos, sus procesos de reproducción son similares a los de los mamíferos, y sus crías se desarrollan dentro del útero de la madre. Prefiere suelos lodosos, tiene hábitos carnívoros y su comportamiento puede variar según el lugar en que se encuentre.

Herramientas de diagnóstico

Mientras que en el aspecto físico se encontraron animales con buena condición corporal, en el componente fisiológico se tomaron varias muestras de sangre, a partir de las cuales se establecerá una línea de base para que en futuras investigaciones se realicen las comparaciones respectivas y se determine si los individuos estudiados están en buen estado.

"Contar con esta información permite generar más datos respecto a esos primeros parámetros sanguíneos, para convertirlos en valores de referencia que permitan implementar programas de monitoreo", destaca el estudiante de maestría.

El análisis se complementó con un sistema de monitoreo por medio de cámaras que permiten observar a los animales sin que detecten la presencia de personas, para que su comportamiento no se vea afectado.

Puesto que no existían antecedentes sobre el comportamiento de las rayas, a partir de esta investigación se establecieron frecuencias, duraciones y una descripción más detallada de los animales, con el fin de saber qué hacen y qué tipo de alimento y sustrato prefieren, lo cual no se podría estudiar en su ambiente natural.

La metodología diseñada, desarrollada y evaluada demostró que es adecuada para adelantar este tipo de evaluaciones, por lo que se esperaría que los futuros estudios replicaran estos ambientes y métodos para caracterizar especies no convencionales.

El proyecto se presentó en el marco del VIII Congreso Colombiano de Acuicultura y Congreso de Acuicultura Latinoamericano y del Caribe 2018 que se celebra en Bogotá hasta el próximo viernes, organizado por la U.N., la Federación Colombiana de Acuicultores y el Capítulo Latinoamericano de la Word Acuacultura Society.

(Por: Fin/JCMG/MLA/LOF)

N.° 496