



MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE

PARQUES NACIONALES NATURALES DE COLOMBIA

RESOLUCIÓN NÚMERO

(**191**)

06/12/2021

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

La Subdirectora de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas de Parques Nacionales Naturales de Colombia, en ejercicio de sus facultades legales y en especial las establecidas en el numeral 14 del artículo 13 del Decreto 3572 de 2011, la Resolución N° 092 de 2011 y

CONSIDERANDO:

Que la Ley 99 de 1993 creó el Ministerio del Medio Ambiente, hoy Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, como el organismo rector de la gestión del medio ambiente y de los recursos naturales renovables, encargado de impulsar una relación de respeto y armonía del hombre con la naturaleza y de definir, las políticas y regulaciones a las que se sujetarán la recuperación, conservación, protección, ordenamiento, manejo, uso y aprovechamiento de los recursos naturales renovables y el medio ambiente de la Nación, a fin de asegurar el desarrollo sostenible.

Que Parques Nacionales Naturales, con sujeción a lo expuesto en el Decreto 3572 de 2011, es la entidad encargada de manejar y administrar las áreas del Sistema de Parques Nacionales Naturales y la coordinación del Sistema Nacional de Áreas Protegidas, para lo cual podrá desarrollar las funciones contenidas en el Decreto Ley 2811 de 1974, la Ley 99 de 1993 y Decreto 1076 de 2015.

Que por intermedio de la Resolución N° 092 de 2011, la Directora General de Parques Nacionales Naturales de Colombia delega una función y dicta otras disposiciones, entre tanto el artículo segundo ibídem dispone *“ARTICULO SEGUNDO: Delegar en el Subdirector de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas la función de otorgar permisos, concesiones y demás autorizaciones para el uso y aprovechamiento de los recursos naturales renovables asociados al Sistema de Parques Nacionales Naturales, y el registro de Reservas Naturales de la Sociedad Civil (...)”* Subrayado fuera de texto.

Que dentro de las funciones asignadas a Parques Nacionales Naturales de Colombia y compiladas en el Decreto 1076 del 26 de mayo de 2015, *“Por medio del cual se expide el Decreto Único Reglamentario del Sector Ambiente y Desarrollo Sostenible”*, en el Libro 1, Parte 1, Título 2, Artículo 1.1.2.1.1, se encuentra en el Numeral 7: *“Otorgar permisos, concesiones y demás autorizaciones ambientales para el uso y aprovechamiento de los recursos naturales renovables en las áreas del Sistema Parques Nacionales Naturales y emitir concepto en el marco del proceso de licenciamiento ambiental de proyectos, obras o actividades que afecten o puedan afectar las áreas del Sistema de Parques Nacionales Naturales, conforme a las actividades permitidas por la Constitución y la Ley”*.

Que en el mencionado decreto, se encuentra la reglamentación sobre el permiso individual de recolección de especímenes de especies silvestres de la diversidad biológica con fines de investigación científica no comercial, y estableció el procedimiento que se debe adelantar, así como las autoridades

↪

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

ambientales competentes para determinar la viabilidad de otorgar el mencionado permiso.

Que el literal c) del artículo 2.2.2.8.1.4. del Decreto 1076 del 26 de mayo de 2015, facultó a Parques Nacionales Naturales de Colombia, para determinar la viabilidad de otorgar el permiso individual de recolección de especímenes de especies silvestres de la diversidad biológica con fines de investigación científica no comercial, cuando las actividades de recolección se desarrollen dentro de las áreas del Sistema de Parques Nacionales Naturales.

Que el artículo 2.2.2.8.3.1 del decreto mencionado, estableció que las personas naturales o jurídicas que pretendan recolectar especímenes para adelantar un proyecto de investigación científica no comercial, deberán adelantar ante la autoridad ambiental competente un Permiso Individual de Recolección, la cual se encargara de determinar la viabilidad de otorgar el mismo.

I. SOLICITUD DEL PERMISO

El señor **JORDAN ESTIVEN RUIZ TOQUICA**, identificado con cédula de ciudadanía No. 1.013.613.746, mediante documentación radicada bajo el consecutivo No. 20214600097562 del 20 de octubre de 2021, elevó ante Parques Nacionales Naturales de Colombia, solicitud de permiso individual de recolección de especímenes de especies silvestres de la diversidad biológica con fines de investigación científica no comercial, para la ejecución del proyecto denominado “*Dinámica del microbioma de *Madracis auretenra* (*Scleractinia: Pocilloporidae*) y respuesta fenotípica de reclutas a estresores ambientales.*”, durante tres (3) años al interior del Parque Nacional Natural Tayrona.

La Subdirección de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas de Parques Nacionales Naturales, mediante Auto No. 373 del 9 de noviembre de 2021, inició el trámite de evaluación de la solicitud de permiso individual de recolección de especímenes de especies silvestres de la diversidad biológica con fines de investigación científica no comercial para el desarrollo del proyecto previamente señalado.

La anterior decisión, fue notificada el día 11 de noviembre de 2021 vía electrónica al señor **JORDAN ESTIVEN RUIZ TOQUICA**, identificado con cédula de ciudadanía No. 1.013.613.746 de conformidad a lo establecido en el artículo 4° de la providencia antes descrita, y los parámetros establecidos en los artículos 53 y subsiguiente de la Ley 1437 de 2011 –Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo, tomando en consideración la autorización expresa realizada en el numeral 5° “*Notificación de Actos Administrativos*” del Formato de Solicitud de Recolección de Especímenes Dentro del Sistema de Parques Nacionales Naturales.

Igualmente, en cumplimiento de lo establecido en el numeral 1° del artículo 2.2.2.8.5.2. del Decreto 1076 de 2015, se publicó en la página web de Parques Nacionales Naturales de Colombia en el link: <https://www.parquesnacionales.gov.co/portal/es/normatividad/gaceta-ambiental/publicaciones-gaceta-anos-anteriores/extractos-de-publicacion/>, un extracto de la solicitud del permiso individual de recolección de especímenes de especies silvestres de la diversidad biológica con fines de investigación científica no comercial, elevado por el señor **JORDAN ESTIVEN RUIZ TOQUICA**, identificado con cédula de ciudadanía No. 1.013.613.746.

II. EVALUACIÓN TÉCNICA

El Área Protegida Parque Nacional Natural Tayrona, una vez revisados los métodos y demás especificaciones del proyecto denominado “*Dinámica del microbioma de *Madracis auretenra* (*Scleractinia: Pocilloporidae*) y respuesta fenotípica de reclutas a estresores ambientales.*”, emitió concepto técnico No. 20216720002116 de 9 de noviembre de 2021, en donde señaló lo siguiente:

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

“CONCEPTO

*Teniendo en cuenta las consideraciones técnicas y las necesidades de tener conocimiento técnico y científico sobre los efectos de la dinámica del microbioma de *Madracis auretenra* dentro del área protegida, se considera necesario por parte del Parque Nacional Natural Tayrona la realización de la investigación y ve viable su desarrollo, ya que proporcionara información relevante para la toma de decisiones y diseño de estrategias, se recomienda acompañamiento en la faenas de toma de muestra por parte del área protegida, así como también solicitar al investigador que durante los dos años de permiso le haga seguimiento al estado de las colonias de corales donde se tomó la muestra, como parte de conocer los efectos de la fragmentación de estas colonias para toma de muestras.*

Las siguientes consideraciones están basadas en la construcción conjunta con los cuatro pueblos indígenas de la SNSM del instrumento de gestión del Parque Nacional Tayrona, como actividad permitida relacionada con la investigación se planteó en el plan de manejo: “Investigación y monitoreo ambiental y cultural, en coordinación con los pueblos indígenas y Parques Nacionales en el marco de la estructura de coordinación del plan de manejo”. Por lo que, la participación de los pueblos indígenas se convierte en ruta de trabajo planteada en el instrumento de gestión, como también el respeto a sus derechos territoriales.

Es importante resaltar que, el PNN Tayrona se encuentra inmerso dentro del territorio sagrado de los cuatro pueblos indígenas de la Sierra Nevada de Santa Marta, lo que implica que se posee un ordenamiento dictado por las propias culturas, como expresión de los sistemas de conocimiento de los pueblos y comunidades que las habitan o usan de alguna manera, y que se concretan en usos, costumbres, prácticas tradicionales y sistemas regulatorios propios. Lo que conlleva a un régimen jurídico y de manejo especial, que se diferencia o constituye una excepción al régimen general previsto en la ley para las áreas que no son habitadas o usadas por grupos étnicos; un régimen especial que el Decreto 622 de 1977 reconoce en su artículo 7 compilado en el Decreto 1076 de 2015 en el artículo 2.2.2.1.9.2. y que a la luz de la Constitución Política de 1991 y la doctrina constitucional resulta indudable y a la vez perentorio dar expresión y desarrollo.

Por lo anterior y teniendo en cuenta que, el reconocimiento de los derechos culturales y territoriales de los cuatro pueblos indígenas de la Sierra Nevada de Santa Marta no se trata de solo un asunto de denominación, si no el respeto y la garantía de los derechos de las comunidades étnicas, el área protegida del PNN Tayrona expresa la necesidad que este proyecto sea socializado a los pueblos indígenas de la SNSM, ya que hacen parte de la estructura de comanejo basados en la gobernanza del territorio, planteada en el instrumento de gestión del área protegida.”

El Grupo de Sistemas de Información y Radiocomunicaciones mediante Concepto Técnico No. 20212400000726 del 2 de noviembre de 2021, una vez georreferenciadas las coordenadas del sitio de trabajo suministradas por la peticionaria, señaló:

“CONCEPTO

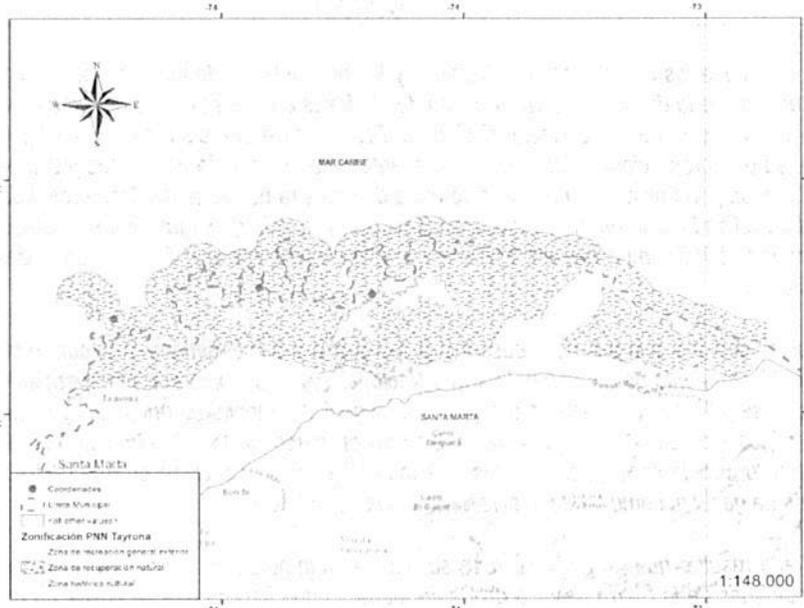
Luego de verificar la información suministrada, se confronta con la información que posee Parques Nacionales Naturales se determina lo siguiente.

las 3 coordenadas se encuentran al interior del Parque Nacional Natural Tayrona, traslapadas con la categoría de zona de recuperación natural

Salida gráfica de apoyo

↙

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”



Fuente Grupo de Sistemas de Información y Radiocomunicaciones (GSIR)

(...)

Igualmente, el Grupo de Trámites y Evaluación Ambiental de la Subdirección de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas de Parques Nacionales Naturales de Colombia, emitió el Concepto Técnico No. 20212300137151 del 24 de noviembre de 2021, a través del cual se evaluaron técnicamente los objetivos, metodologías y demás especificaciones del proyecto denominado “*Dinámica del microbioma de *Madracis auretenra* (*Scleractinia: Pocilloporidae*) y respuesta fenotípica de reclutas a estresores ambientales.*”, señalando lo siguiente:

“CONSIDERACIONES TÉCNICAS

Una vez revisada la información relacionada en el Formato de recolección de especímenes dentro del Sistema de Parques Nacionales Naturales, la presente investigación presenta los siguientes objetivos, métodos y resultados esperados:

(...)

Objetivo

General

*Evaluar la dinámica del microbioma de *Madracis auretenra* bajo diferentes condiciones ambientales, y la manipulación de la respuesta fenotípica de reclutas frente a dos estresores.*

Específicos

- *Comparar el microbioma del mucus y tejido de diferentes colonias sanas y con algún signo de deterioro de *M. auretenra* teniendo en cuenta la ubicación, la época climática y la interacción con algas.*
- *Identificar en el mucus y tejidos de *M. auretenra* grupos microbianos candidatos a ‘microorganismos benéficos para corales’.*
- *Evaluar el uso del mucus de *M. auretenra* en la manipulación de la respuesta de fragmentos reclutas frente a la temperatura y un contaminante.*

Área de estudio: PNN Tayrona

Tiempo de muestreo: El tiempo solicitado para la ejecución del proyecto de investigación corresponde a dos (02) años.

Métodos

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

Objetivo específico 1: Comparar el microbioma del mucus y tejido de diferentes colonias sanas y con algún signo de deterioro de *M. auretenra* teniendo en cuenta la ubicación, la época climática y la interacción con algas.

1. Caracterización de los sitios de muestreo

Se establecerán dos sitios de muestreo dentro de esta zona, el sitio 1 (S1) en el sector de Inca Inca en donde existe una formación coralina dominada por *Madracis auretenra*, y el cual a su vez está influenciado por la pluma del río Gaira, el Canal de la Escollera, y los asentamientos urbanos del Rodadero-Gaira y Santa Marta. El sitio 2 (S2) corresponderá al sector de Bahía Chengue-Neguanje-Isla Aguja, en donde se ha reportado previamente formaciones arrecifales bien establecidas con la presencia de *M. auretenra*, y el cual a su vez hace parte del PNNT y se encuentra a mayor distancia de la influencia de los ríos y asentamientos urbanos de la zona.

Se tomarán tres muestras de agua en tres puntos seleccionados al azar dentro de los dos sitios de muestreo y en un rango de profundidad entre 3 y 10 m. Después de la recolección, las muestras se refrigerarán a 4 °C hasta su transporte a un laboratorio certificado (p.ej.: LABCAM del INVEMAR) con el fin de obtener información sobre las siguientes variables fisicoquímicas: oxígeno disuelto, nutrientes (nitritos, nitratos, amonio y ortofosfatos), y sólidos suspendidos totales (SST), así como para la detección de posibles contaminantes (Narayanan et al., 2016). Algunas variables como la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto se tomarán medirá in situ (Vega-Sequeda et al., 2019).

En cada sitio de muestreo, se identificarán parches coralinos que contengan a *M. auretenra*, y en estos, se hará un barrido de la cobertura coral-alga siguiendo la metodología propuesta por Brown et al. (2017). Para ello, se colocarán alternativamente de izquierda-derecha 60 fotocuadrantes de 0,5 x 0,5 m a lo largo de una banda transecto de 2 x 15 m y a una profundidad constante de más o menos 10 m. Luego, las imágenes se analizarán por medio del programa PhotoQuad (Trygonis y Sini, 2012). Para la estimación de la cobertura, se seleccionarán de 25 a 100 puntos aleatorios por cuadrante (Bryant et al., 2017) y en cada punto se determinará la presencia de alguna de las tres categorías: coral vivo, coral muerto y alga. Dentro de la categoría alga, se establecerán tres subcategorías: algas frondosas, cespitosas (filamentosas + cianobacterias) y costrosas coralinas (Brown et al., 2018). Con esta información se determinará el cociente de cobertura coral-alga (cociente entre el % de coral vivo y el % de alga) para cada parche coralino en cada sitio. Adicionalmente, se calculará el Índice de Salud Arrecifal (ISA) para la comunidad bentónica coralina (Cuthbert et al., 2019).

Además de esta aproximación, se propone determinar el porcentaje de interacción coral-alga exclusivamente cuando hay contacto entre *M. auretenra* y el alga; esto con el fin de establecer el tipo de interacción que puede estar dominando entre estos organismos (Brown et al., 2018). Para ello, se estimará la frecuencia de contacto siguiendo la metodología propuesta por Barott et al. (2009). Para ello, por medio de dos transectos replicados de 15 m por sitio a una profundidad constante de 10 m y en los parches donde se observe contacto *M. auretenra* y el alga, se estimará el diámetro de la colonia (o longitud de la rama) y la longitud del borde del coral en contacto con el alga para determinar tres categorías: coral sobrecreciendo el alga ('coral ganando'), alga sobrecreciendo el coral ('coral perdiendo') y aparentemente neutra (no hay sobrecrecimiento de ninguno) (Brown et al., 2017; 2018).

2. Análisis del microbioma de *M. auretenra*

Para la recolección de las muestras se seguirá un diseño jerárquico anidado con cuatro factores cada uno con dos niveles: sitio (1 y 2), época climática (seca, lluviosa), interacción con alga (con contacto, sin contacto), y estado de la colonia (sana, con deterioro). En un muestreo aleatorio simple, se marcarán tres colonias donadoras para cada condición anidada, y se asegurará que cada colonia presente similar largo de las ramas (cm). De cada colonia se tomarán dos fragmentos de 3 cm ($n = 6$ por condición; p.ej.: seis fragmentos sanos con contacto directo con algas en el sitio 1 durante la época lluviosa). Los muestreos se realizarán durante dos años, y cada fragmento (que incluye el mucus y el tejido del coral) se desprenderá utilizando martillo y cincel, se almacenarán en bolsas de polietileno estériles, y se refrigerarán a 4 °C hasta su transporte al laboratorio. Una vez allí, se realizarán cinco lavados con agua de mar estéril por 10 s con el fin de remover material particulado y los microorganismos débilmente adheridos. También, se tomarán muestras de agua de mar en cada uno de los sitios de muestreo para análisis del microbioma del agua de mar (Turon et al., 2018). Para ello, se tomará una muestra de agua en la columna de 1 a 5 cm sobre la superficie de las colonias. Se pasará 1 L de la muestra en filtros Sterivex™ de 0,2 µm, los cuales se marcarán con los datos del sitio de recolección, se envolverán en papel aluminio estéril, y se congelarán inmediatamente hasta su transporte al laboratorio en la Universidad Jorge Tadeo Lozano, sede Santa Marta, donde se almacenarán a -80 °C hasta su procesamiento (Roitman et al., 2020).

Tres fragmentos de cada condición se dispondrán en tubos de centrifuga con buffer salino de fosfatos -PBS- estéril. Las muestras se centrifugarán a 3.000 X g por 3 min y se recuperará el sobrenadante que contiene el

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

mucus. Luego, los fragmentos se macerarán en mortero y en PBS limpio; y en nuevos tubos, se permitirá que el esqueleto de CaCO_3 se precipite para así recuperar el sobrenadante el cual contiene el tejido del coral. Las muestras del mucus y del tejido se preservarán en etanol absoluto a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ hasta su procesamiento (Koren y Rosenberg, 2006); luego, se homogenizarán en nitrógeno líquido o por liofilización, y el pulverizado resultante se almacenará a $-80\text{ }^\circ\text{C}$. Se tomarán de 0,4 a 1,0 g del pulverizado para la extracción del ADN total bacteriano por medio del ZR Soil Microbe DNA Kit™ y de acuerdo con las instrucciones del protocolo. Cada extracción de ADN se realizará por triplicado, y al final, las muestras duplicadas de cada condición se mezclarán y diluirán a una concentración final de $50\text{ ng-}\mu\text{L}^{-1}$. Paralelamente, el filtrado de 1 L de agua de mar a $0,22\text{ }\mu\text{m}$ se utilizará para la extracción de ADN total bacteriano como se describió anteriormente.

Para identificar la comunidad bacteriana asociada con las muestras, se amplificará la región hipervariable V4 del gen 16S ARNr, dado que presenta mayor divergencia y resolución filogenética, y por ser la región de la cual existe mayor número de secuencias almacenadas en las bases de datos (Kim et al., 2011). La amplificación se realizará con los primers 515F (5'-ACA CTG ACG ACA TGG TTC TAC AGT GCC AGC MGC CGC GGT AA-3') y 806R (5'- TAC GGT AGC AGA GAC TTG GTC TGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT-3') que incluyen adaptadores Illumina 5' y Golay barcode 3' (Caporaso et al., 2012; Roitman et al., 2020). Las librerías de amplicones se secuenciarán usando la plataforma HiSeq (Q30 > 80 %) para obtener lecturas de 250 pb (Alvarez-Yela et al., 2019). Las lecturas resultantes se analizarán con el programa QIIME 2 (Gonzalez-Zapata et al., 2018; Leite et al., 2018; Alvarez-Yela et al., 2019; Clements et al., 2020; Roitman et al., 2020), y las secuencias de mayor calidad se agruparán en Secuencias Variantes Amplicón (ASVs). La asignación taxonómica de las lecturas se hará contra la base de datos del SILVA Ribosomal RNA Database a una similitud del 97 – 99 % (Cole et al., 2014). se estimará la riqueza y diversidad con los índices Chao1 y Shannon-Weaver respectivamente (Caporaso et al., 2010), por lo que cada tabla de ASVs se importará a R por medio del paquete 'Phyloseq' (McMurdie y Holmes, 2013) para calcular la diversidad alfa (dentro de la muestra) y beta (entre las muestras). Además, las medidas UniFrac se usarán para evaluar la importancia relativa de la presencia/ausencia de taxones específicos dentro de las muestras versus la abundancia de estos mismos (O'Brien et al., 2020). Las curvas de rarefacción se realizarán para tres submuestras de 800 secuencias de acuerdo con la metodología propuesta por Gaidos et al. (2011), y se calcularán a un 0 %, 3 % y 5 % de disimilitud a través del programa DOTUR (Schloss y Handelsman, 2005). El grupo filogenético conservado (o 'core') se determinará graficando las abundancias de los ASVs con respecto a la fracción mínima de muestras del 2 % establecida desde 0 a 100 % en el programa QIIME 2 (Ainsworth et al., 2015). Se identificarán los filotipos representados en al menos el 30, 50 y 75 % de las muestras, y se determinará el filotipo presente en los fragmentos de las colonias más resistentes (posiblemente las colonias sanas provenientes de S1, con alta concentración de materia suspendida, con contacto directo con algas, y estables durante la época lluviosa).

3. Análisis estadístico de los microbiomas

*Cada tabla de ASVs se exportará para análisis estadístico en el paquete R. Las abundancias de las secuencias se transformarán con raíz cuadrada y se agruparán en matrices de disimilitud de Bray-Curtis (Röthig et al., 2016; O'Brien et al., 2020). Se calcularán las diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la composición y abundancia relativa de las comunidades de bacterias asociadas al mucus y tejidos de los fragmentos provenientes de las colonias en cada una de las condiciones (comparadas a nivel del estado de la colonia, contacto o sin contacto con algas, la ubicación geográfica y la época climática) (Love et al., 2014). Antes de las pruebas estadísticas, se determinarán las condiciones de dispersión de los datos, para ello, se realizará una prueba de homogeneidad de dispersión multivariada (PERMDISP) y se calculará el promedio de dispersión de la nube de datos (distancia ortogonal de la muestra al centroide) (Pratte y Richardson, 2018). Luego, se harán las pruebas de Análisis de Similitud ADONIS y ANOSIM a partir de las matrices de distancias, en donde la prueba ADONIS calcula el valor R2, el cual representa el porcentaje de variación explicado por una categoría determinada (en este caso la condición, ubicación o época climática), y el valor-p (significancia estadística) (Ainsworth et al., 2015); mientras la prueba ANOSIM determina las diferencias significativas comparando la distancia entre grupos y dentro de los grupos. También, se usará un análisis de similitud de perfiles (SIMPROF) para identificar comunidades diferentes y un escalamiento multidimensional no-métrico (nMDS) para representar gráficamente las relaciones entre la variabilidad de la abundancia de taxones y la variabilidad de las condiciones ambientales. Por último, se compararán los grupos microbianos de *M. auretenra* con respecto al microbioma del agua de mar circundante con el fin de determinar las diferencias a nivel de ASVs e identificar filogrupos potencialmente simbiotes, estrictamente simbiotes, y grupos transitorios o potenciales oportunistas (Turon et al., 2018).*

Objetivo específico 2: Identificar en el mucus y tejidos de *M. auretenra* grupos microbianos candidatos a 'microorganismos benéficos para corales'.

Se aislarán e identificarán cepas bacterianas candidatas a Microorganismos Benéficos para Corales (BMCs) o probióticos. Se realizarán diluciones en serie y siembras en placas de agar Tripticasa-soya (TS) con 1 % de NaCl

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

a partir de muestras de mucus y tejido no preservadas de dos fragmentos provenientes de las colonias sanas en S1 (sitio con mayor incidencia de estresores). Las placas se incubarán a 28 °C por 24 h, y después de esto, se aislarán y purificarán colonias bacterianas las cuales se preservarán a – 80 °C en caldo marino con 20 % de glicerol. Cada aislado se caracterizará morfológicamente (textura, bordes y tinción Gram) (Hemraj, et al., 2013) y se evaluarán algunas características benéficas para corales tales como: 1) la producción de pigmentos (protección UV), 2) actividad antimicrobiana contra patógenos comunes de corales (p.ej.: *Vibrio* sp aislado de episodios de enfermedad en corales como *Pseudodiploria strigosa*) a través de ensayos de inhibición del crecimiento, difusión en placa y de estría cruzada; 3) actividad reductora de especies reactivas de oxígeno (ROS) por medio de las prueba catalasa (Dungan et al., 2020), 4) actividad disruptora de quórum sensing con el biosensor *Chromobacterium violaceum* (Rosado et al., 2019; Theodora et al., 2019); 5) producción de sideróforos, y 6) actividad degradadora de contaminantes. Para este último, se evaluarán algunos de los pesticidas de uso comercial de la zona de Santa Marta a través de un ensayo de crecimiento en medio mínimo con 0,1, 0,5, y 1,0 % del pesticida como única fuente de carbono (Rahman et al., 2018). Las cepas bacterianas que presenten tres o más de estas actividades se seleccionarán para su identificación por secuenciación del gen 16S ADNr con los primers 27F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') y 1492R (5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3') (Lane, 1991) de acuerdo con Cárdenas et al. (2012). Los productos de PCR se secuenciarán a través de la plataforma SANGER, y las secuencias se editarán por medio del programa BioEdit y luego se analizarán con BLASTn contra la base de datos del GenBank, del RDP o del Greengenes. Los valores de similitud del 98 al 100 % se usarán para la asignación de especies y < 97 % de género (Valenzuela-González et al., 2015). Las secuencias resultantes se almacenarán en la base de datos del NCBI.

Objetivo específico 3: Evaluar el uso del mucus de *M. auretenra* en la manipulación de la respuesta de fragmentos reclutas frente a la temperatura y un contaminante.

1. Diseño experimental microcosmos

Se propone usar el mucus de *M. auretenra* como inóculo para la manipulación del fenotipo microbiano de fragmentos de coral. El mucus de tres fragmentos (3 x 3 cm) provenientes de las colonias sanas en S1 se extraerá como se describió previamente, pero en tres intervalos de tiempo de 60 min de reposo para permitir la secreción de nuevo material (Koren y Rosenberg, 2006). Una vez recolectado, se preservará en 20 % de glicerol a – 80 °C hasta su procesamiento. Por otro lado, para el establecimiento de un vivero de crías de reclutas, se usarán fragmentos de *M. auretenra* provenientes de las colonias sanas en S2 (sitio con baja incidencia de estresores) y de fragmentos de otras especies comúnmente utilizadas en actividades de restauración coralina (p.ej.: *Porites porites*) (Boström-Einarsson et al., 2020) recolectados en sitios con baja perturbación. Para el vivero, se hará microfragmentación a 1 x 1 cm, y los fragmentos resultantes se adherirán a pequeñas placas (o pedestales) de cemento con masilla epóxica, y se aclimatarán en tanques con condiciones estables controladas: agua de mar (28 °C, 35 UPS y pH 7,4) ultrafiltrada y estéril, aireación continua, recirculación con filtro, con rocas vivas (filtración microbiana/remoción del nitrógeno), fotoperiodos de 12 h luz: 12 h oscuridad, y por tres semanas hasta 20 meses (Pratte et al., 2015).

Para la inoculación del mucus, se ajustará la concentración a más o menos 106 – 107 células-mL⁻¹ y se adicionará por baño/directamente en el agua de los contenedores siete veces en intervalos regulares. Para ello, se seleccionarán al azar 180 fragmentos del vivero, y se dispondrán en dos acuarios aparte previamente acondicionados, cada uno con 90 fragmentos. El mucus preservado se reactivará a temperatura ambiente (25 °C) y se inyectará con jeringas estériles en uno de los acuarios, mientras que en el otro acuario, se adicionará un inóculo a base de agua marina estéril (Peixoto et al., 2017; Rosado et al., 2019). Después de la inoculación, los reclutas se dejarán aclimatando por dos semanas más; luego, se dispondrán dos series de tres tanques (serie 1 = reclutas inoculados con mucus, serie 2 = reclutas inoculados sin mucus), cada tanque con diez reclutas; en el primer tanque las condiciones serán estables (control); en el segundo, se incrementará la temperatura de 25 a 31 °C a una tasa de 1 °C-semana⁻¹ (Pratte y Richardson, 2018); y en el tercero, se adicionará un pesticida a una concentración de 0,1 a 1,0 mg-L⁻¹ a una tasa de aumento de 0,16 mg-L semana⁻¹, y el cual se escogerá por su uso habitual en la zona de Santa Marta. El experimento tendrá una duración de seis semanas y se realizará por triplicado. Al final, el efecto del aumento de la temperatura y la presencia del pesticida sobre la estabilidad de los reclutas con y sin inóculo del mucus, se medirá con base a dos respuestas: fisiológica y la aparición de signos de estrés a nivel del tejido. En relación con la respuesta fisiológica, los indicadores serán el crecimiento y la aparición de infecciones microbianas. El crecimiento se medirá en 3D (largo, ancho y alto; en cm³) y 2D (largo y ancho; en cm²), de forma periódica y por medio de fotogrametría; con ello, se determinará la tasa de crecimiento promedio de los reclutas. En cuanto a la aparición de signos de estrés, se observará cualquier indicio de blanqueamiento, necrosis, hiperplasia epidérmica, neoplasias, y reducción del esqueleto (Peters, 1984; Rosado et al., 2019); y con ello, se determinará el porcentaje del tejido afectado con respecto al tejido sano. Finalmente, mediante una prueba Chi-cuadrado se determinará si existen diferencias con relación al control ($p < 0,05$) (Gart, 2006) comparando el crecimiento, las tasas de crecimiento, y la proporción tejido sano/tejido con signo de estrés.

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

2. Verificación de la manipulación del fenotipo microbiano

Con el fin de evaluar la eficacia de la manipulación del fenotipo microbiano y el enriquecimiento de los posibles grupos benéficos en los reclutas de *M. auretenra* inoculados con mucus, se identificarán y enumerarán estos filogrupos usando hibridación fluorescente *in situ* combinada con la amplificación de una señal reportera o CARD-FISH (Wada et al., 2016; Wada et al., 2019). Para ello, se tomarán fragmentos de 3 x 3 cm de los reclutas con inóculo de mucus y de los reclutas sin el inóculo, y se extraerá el mucus como se describió previamente. Luego, se realizarán cortes del tejido vivo, y las muestras de mucus y tejido se fijarán en PBS libre de ARNsa y ADNsa con 4 % de formaldehído (Ainsworth et al., 2015). El protocolo de CARD-FISH se llevará a cabo según Tujula et al. (2006) y Wada et al. (2019) y se incluirán los siguientes pasos: (1) pretratamiento con etanol y descalcificación del tejido, (2) incrustación, (3) permeabilización e inactivación de peroxidasas, (4) hibridación de las sondas y (5) amplificación de la señal tiramina. Para asegurar que la comunidad microbiana en el mucus y los tejidos no se alterarán por los tratamientos en cada paso, la densidad celular se evaluará cualitativamente en cada paso a través de microscopía de epifluorescencia y tinción con 4'6'-diamidinophenylindol (DAPI; 2 g-mL-1) (Tujula et al., 2006). Para la hibridación sobre las muestras de mucus y tejidos, se utilizarán sondas HRP dirigidas a bacterias EUB338mix (Daims et al., 1999), sondas dirigidas para los principales filotipos conservados (o 'core') de las colonias sanas resistentes detectados en el apartado 2.5 (p. ej. *Endozoicomonas*, *Actinobacteria*, *Pseudoalteromonas*) (Ainsworth et al., 2015), y Alexa546 como señal reportera. Las muestras hibridadas se observarán a través de microfotografía de escaneo láser confocal (Tujula et al., 2006).

Resultados esperados

1. Descripción de la dinámica del microbioma coralino bajo condiciones multiestrés (ubicación, época climática y relación coral-alga): diversidad microbiana alfa y beta, y presencia-ausencia de filotipos microbianos.
2. Descripción del microbioma de *Madracis auretenra* y la identificación de un grupo 'core'.
3. Identificación de filotipos microbianos candidatos a benéficos para corales tanto en el componente cultivable como en el no-cultivable del microbioma. Identificación de cepas bacterianas candidatas a probióticos para corales.
4. Formulación de una estrategia basada en un inóculo de mucus como mecanismo alternativo con enfoque para la restauración coralina. Se espera lograr la manipulación del microbioma bajo esta estrategia y modular la respuesta del coral con el nuevo fenotipo microbiano frente al aumento de la temperatura y en presencia de un contaminante.

(...)"

ANÁLISIS TÉCNICO

Respecto al área protegida implicada

Dirección Territorial Caribe

PNN Tayrona

El área terrestre del PNN Tayrona con una extensión total de aprox. 12692.2 Ha, posee cuatro tipos de ecosistemas: matorral espinoso y los bosques seco, húmedo y nublado, en donde habitan diversidad de organismos y por los cuales corren quebradas de agua dulce. Existen caminos arqueológicos que comunican a "Chairama" o Pueblito ahora conocido como Ciudad Perdida o "Teyuna", con el resto del Parque. La mayoría de las bahías eran consideradas sitios de pagamento.

En el área marina con una extensión total de aprox. 6564.4 Ha, se pueden observar los abruptos e imponentes acantilados rocosos que componen más del 70% del litoral marino costero, extensas y hermosas playas arenosas de cascajo y roca, formaciones coralinas, praderas de fanerógamas marinas, congregaciones algales, rodales de manglar, fondos sedimentarios, lagunas costeras y madrevejas en constante intercambio con el mar, lo que le da vida a la fauna y flora que se adapta a estas condiciones ambientales.

Los objetivos de conservación del PNN Tayrona son:

- Mantener la muestra de bosque seco tropical y matorral espinoso por su representatividad a nivel nacional y local.
- Conservar la muestra representativa del bosque nublado y húmedo por sus características únicas altitudinales.
- Mantener y conservar el ecosistema lagunar costero como reguladores hídricos y hábitat de especies migratorias y residentes.
- Conservar la integridad hídrica de las cuencas y microcuencas que se encuentran en el área.

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

- Proteger a perpetuidad las poblaciones de especies endémicas, migratorias, amenazadas o en peligro y/o de importancia de subsistencia de las comunidades humanas locales junto con sus hábitats.
- Conservar el mosaico ecosistémico marino costero existente en el área del parque.
- Conservar los puntos de “Linea Negra” dentro del área, como parte constitutiva del territorio indígena del complejo de la Sierra Nevada de Santa Marta.
- Proteger “Pueblito”, como monumento y patrimonio nacional y los sitios de asentamiento prehispánicos.

Para esta verificación, se emitió el concepto técnico No. 2021240000496 donde se señala que:

“...Las 3 coordenadas se encuentran al interior del Parque Nacional Natural Tayrona, traslapadas con la categoría de zona de recuperación natural...”

Las actividades de campo para el desarrollo de la investigación se realizarán en un periodo de dos (02) años.

Sobre el proyecto en general

Una vez verificada la documentación relacionada por la solicitante, la realización de esta investigación arrojará resultados que aportarán en la implementación del Lineamiento Institucional de Investigación establecido mediante Resolución No. 0351 de 2012, en la línea de investigación: 1. Caracterización de la base natural del Sistema de Parques Nacionales Naturales.

Respecto al proyecto de investigación, el solicitante relaciona que: “En la zona de Santa Marta, existen varias formaciones coralinas (Vega-Sequeda et al., 2008) afectadas constantemente por la variación de los parámetros fisicoquímicos del agua entre las épocas climáticas (Vega-Sequeda et al., 2019), y por las descargas de los ríos y aguas residuales que, en ocasiones, aportan una alta carga de sedimentos y contaminantes como los pesticidas (INVEMAR, 2018). Sumado a esto, el aumento de los nutrientes y la subsecuente proliferación de algas conllevan a una alta competencia dentro de las comunidades bentónicas (McCook et al., 2001). Así, la presión que ejercen estas condiciones tiene una alta repercusión en la salud y estabilidad de los corales (Ellis et al., 2019). A pesar de esto, se ha observado que existen formaciones coralinas capaces de resistir estos estresores ambientales (Pizarro et al., 2017; Heery et al., 2018; Martínez-Castillo et al., 2020), y otras, han sido capaces de recuperarse de eventos perturbadores del ambiente (Browne et al., 2019; Romero-Torres et al., 2020).

Una posible explicación de esta resistencia puede estar relacionada con las comunidades microbianas asociadas a estos organismos. Se ha visto que las condiciones ambientales también afectan la estructura –es decir, la composición y abundancia–, de estas comunidades microbianas (McDevitt-Irwin et al., 2017). Dichas comunidades microbianas (llamadas en su conjunto microbioma) establecen complejas relaciones con sus hospederos (en este caso, el coral) y a su vez, desempeñan un papel crucial en su mantenimiento, resistencia y resiliencia (Rosenberg et al., 2007; Bourne et al., 2016). En pocas palabras, un coral con una relación estable con el microbioma es un coral saludable y resistente (Roitman et al., 2018; Biolard et al., 2020).

Actualmente, se ha demostrado que la respuesta del microbioma frente a estresores ambientales puede traducirse en la amortiguación de los impactos sobre la salud y estabilidad del hospedero (Rosenberg et al., 2007; Pootakham et al., 2018; Pratte et al., 2018; Maher et al., 2020). Con base en lo anterior, algunos estudios del microbioma de los corales apuntan a la identificación de microorganismos benéficos, los cuales puedan ser usados para modular la respuesta de los corales frente a diferentes estresores ambientales (Rosado et al., 2019; Blackall et al., 2020; Peixoto et al., 2019; Peixoto et al., 2020). Esto se ha llevado a cabo a través de estrategias como la manipulación del fenotipo microbiano de los corales (van Oppen et al., 2015; Damjanovic et al., 2017; Peixoto et al., 2017).

En el Caribe colombiano, en zonas donde la perturbación ambiental es alta, pero a su vez, es posible encontrar formaciones arrecifales estables y consolidadas; ya se han adelantado estudios del papel del microbioma en la resistencia de algunas especies de coral que hacen parte de estas formaciones, y de la respuesta del microbioma a las variaciones de la calidad del agua (Roitman et al., 2020). No obstante, se precisan estudios adicionales que relacionen la dinámica del microbioma coralino con la resistencia del coral a múltiples estresores; y con ello, estudios que permitan proponer estrategias para modular la respuesta de los corales frente a estresores importantes como el aumento de la temperatura y los contaminantes”.

EL PNN Tayrona en concepto técnico No. 20216720002116 destaca que: “Debido a la estabilidad de la comunidad arrecifal y su cercanía al clímax ecológico, los arrecifes coralinos son ecosistemas muy frágiles ante la acción de agentes perturbadores externos; por esto existen muchas alteraciones, tanto de origen natural como antropogénico, que los afectan negativamente. Tormentas, huracanes, eventos como el fenómeno del Niño, contaminación, alta sedimentación por deforestación y sobrepesca, entre otros muchos factores, han provocado una considerable disminución de la salud coralina en las últimas décadas (Grigg y Dollar, 1990; Ginsburg, 1994; Birkeland, 1997). Sin embargo, uno de los fenómenos que parece estar afectándolos en mayor medida durante los últimos tiempos, es la aparición de nuevas y numerosas enfermedades coralinas. En algunos casos se cree que estas enfermedades han sido relativamente bien caracterizadas (como es el caso de la Aspergilosis y la

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

Plaga Blanca), pero otras muchas han sido poco estudiadas hasta la fecha (como es el caso de la Banda Amarilla y la enfermedad de los Lunares Oscuros) a pesar de tener una gran incidencia en la mortalidad coralina de algunas áreas. Más aún, enfermedades que se creían relativamente bien caracterizadas, han mostrado nuevas facetas que revelan realmente lo poco que se ha progresado en estas tres décadas en el estudio de las enfermedades coralinas (Richardson, 1998; Frías-López et al., 2003; Sutherland et al., 2004) en Gil-Agudelo. D et al. 2009.

Además, debido a los cambios climáticos y los efectos antropogénicos, la simbiosis entre la zooxantelas y los corales se ha visto afectada, lo cual como se menciona ha generado diversas enfermedades en las poblaciones coralinas y a través de diversos estudios se descubrió que estas eran generadas por bacterias patógenas, que atacan el tejido conectivo de los corales (Harvell C. D. et al., 1999).

Todas estas enfermedades causadas por poblaciones de microorganismos también están influyendo en la biología de los corales.

Las enfermedades son un componente biológico relevante que puede poner en riesgo la diversidad, causando la disminución de poblaciones y sus consecuentes extinciones (Harvell et al., 2002). Sin embargo, es necesario recalcar que las enfermedades también son un componente natural de comunidades coralinas (Vargas-Angel, 2009), por lo que inclusive dentro de ecosistemas poco afectados por las actividades humanas pueden presentarse diversas enfermedades. En Rodríguez v. J., 2016”.

Sobre el grupo objeto de estudio

Respecto al grupo objeto de estudio, el solicitante destaca que: “En los últimos años, el indicador de la calidad de aguas para la preservación de flora y fauna en la zona de Santa Marta ha sido cerca del 3 % pésima, 13 % inadecuada, 9 % aceptable y 75 % adecuada. Este porcentaje inadecuado y aceptable se ha presentado frente a la desembocadura de los ríos locales, y en especial, durante la época lluviosa (INVEMAR, 2017; 2018; 2019; 2020). En consecuencia, constantemente se ha observado un aumento sustancial de la materia suspendida y de los nutrientes inorgánicos, lo que a su vez genera la eutrofización de las aguas costeras (Calvachi y Ortiz, 2013) y con ello, los florecimientos algales como los que se han presentado previamente en la bahía de Santa Marta (Arbelaez et al., 2020). Sumado a esto, el agua residual vertida por el emisario submarino, las escorrentías urbanas de aguas residuales que llegan a las playas turísticas urbanas, y el río Manzanares con alta degradación ambiental en su cuenca baja y desembocadura en la bahía de Santa Marta; tienen un efecto importante en la calidad del agua (Garcés-Ordóñez et al., 2016).

Con ello, se sabe que existe una variación continua de los parámetros fisicoquímicos, y que hay aportes de algunos contaminantes que en su conjunto pueden convertirse en un problema para la salud y sostenimiento de las formaciones coralinas de esta zona (Wenger et al., 2016). Además, estas variaciones a escala local también afectan las comunidades microbianas asociadas a estos organismos; por lo que cambios desfavorables en estas comunidades pueden resultar en la aparición de enfermedades (Maynard et al., 2015), signos de deterioro y en el blanqueamiento del tejido de las colonias de los corales (Heron et al., 2016; Hughes et al., 2017). A pesar de esto, hay algunas formaciones coralinas bien establecidas que han persistido a lo largo del tiempo pese a estos cambios constantes en las condiciones ambientales (Vega-Sequeda et al., 2008; Gil-Agudelo et al., 2009; Gómez-López et al., 2018; Gómez-López et al., 2020; INVEMAR, 2021).

La razón de esta resistencia y adaptabilidad bajo estas condiciones estresantes puede estar relacionada con la dinámica de las comunidades microbianas asociadas a estos organismos (Bourme et al., 2016; Peixoto et al., 2017; Peixoto et al., 2020). Por tal motivo, es indispensable estudiar esta dinámica con el fin de entender como la interacción coral-microbioma permite que el coral responda al estrés generado por estos cambios, por lo que identificando qué cambios en la comunidad microbiana son benéficos para el coral y qué grupos microbianos contribuyen a la resistencia y adaptación del mismo; permitiría diseñar e implementar estrategias que potencien los esfuerzos de mantenimiento, cuidado y recuperación de las formaciones coralinas en esta y otras zonas, sobre todo, en sitios afectados por la ocurrencia de múltiples estresores ambientales”

*EL PNN Tayrona en concepto tecnico No. 20216720002116 indica que: “Teniendo en cuenta las consideraciones técnicas y las necesidades de tener conocimiento técnico y científico sobre los efectos de la dinámica del microbioma de *Madracis auretenra* dentro del área protegida, se considera necesario por parte del Parque Nacional Natural Tayrona la realización de la investigación, ya que proporcionara información relevante para la toma de decisiones y diseño de estrategias”*

Sobre los métodos

Se consideran adecuados los métodos relacionados en el Formato de solicitud para el desarrollo del proyecto de investigación en el PNN Tayrona debido a que no van en detrimento de los ecosistemas y especies objeto de estudio.

Se realizarán las siguientes actividades del proyecto dentro del PNN Tayrona:

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

Objetivo específico 1: Comparar el microbioma del mucus y tejido de diferentes colonias sanas y con algún signo de deterioro de *M. auretenra* teniendo en cuenta la ubicación, la época climática y la interacción con algas.

Caracterización de los sitios de muestreo

- Establecer dos sitios de muestreo, el sitio 1 (S1) en el sector de Inca Inca en donde existe una formación coralina dominada por *Madracis auretenra*, y el cual a su vez está influenciado por la pluma del río Gaira, el Canal de la Escollera, y los asentamientos urbanos del Rodadero-Gaira y Santa Marta. El sitio 2 (S2) corresponderá al sector de Bahía Chengue-Neguanje-Isla Aguja, en donde se ha reportado previamente formaciones arrecifales bien establecidas con la presencia de *M. auretenra*, y el cual a su vez hace parte del PNNT y se encuentra a mayor distancia de la influencia de los ríos y asentamientos urbanos de la zona.
- Tomar tres muestras de agua a una profundidad de 3 y 10m en tres puntos seleccionados al azar dentro del sitio de muestreo.
- Refrigerar las muestras a 4 °C hasta su transporte a un laboratorio certificado (p.ej.: LABCAM del INVEMAR) con el fin de obtener información de las variables fisicoquímicas: oxígeno disuelto, nutrientes (nitritos, nitratos, amonio y ortofosfatos), y sólidos suspendidos totales (SST), así como para la detección de posibles contaminantes (Narayanan et al., 2016).
- Medir la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto.
- Identificar parches coralinos que contengan a *M. auretenra*.
- Hacer un barrido de la cobertura coral-alga, colocando alternativamente de izquierda-derecha 60 fotocuadrantes de 0,5 x 0,5 m a lo largo de una banda transecto de 2 x 15 m y a una profundidad constante de más o menos 10 m.
- Analizar las imágenes por medio del programa PhotoQuad (Trygonis y Sini, 2012).
- Estimar la cobertura seleccionando de 25 a 100 puntos aleatorios por cuadrante, en cada punto se determinará la presencia de alguna de las tres categorías: coral vivo, coral muerto y alga. Dentro de la categoría alga, se establecerán tres subcategorías: algas frondosas, cespitosas (filamentosas + cianobacterias) y costrosas coralinas.
- Determinar el cociente de cobertura coral-alga (cociente entre el % de coral vivo y el % de alga) para cada parche coralino en cada sitio.
- Calcular el Índice de Salud Arrecifal (ISA) para la comunidad bentónica coralina.
- Determinar el porcentaje de interacción coral-alga exclusivamente cuando hay contacto entre *M. auretenra* y el alga.
- Estimar la frecuencia de contacto, empleando dos transectos replicados de 15 m por sitio a una profundidad constante de 10 m, en los parches donde se observe contacto *M. auretenra* y el alga.
- Estimar el diámetro de la colonia (o longitud de la rama) y la longitud del borde del coral en contacto con el alga para determinar tres categorías: coral sobrecreciendo el alga ('coral ganando'), alga sobrecreciendo el coral ('coral perdiendo') y aparentemente neutra (no hay sobrecrecimiento de ninguno).

Análisis del microbioma de *M. auretenra*

- Recolectar las muestras siguiendo un diseño jerárquico anidado con cuatro factores cada uno con dos niveles: sitio (1 y 2), época climática (seca, lluviosa), interacción con alga (con contacto, sin contacto), y estado de la colonia (sana, con deterioro).
- Emplear un muestreo aleatorio simple.
- Marcar tres colonias donadoras para cada condición anidada, se asegurará que cada colonia presente similar largo de las ramas (cm).
- Tomar de cada colonia dos fragmentos de 3 cm ($n = 6$ por condición; p.ej.: seis fragmentos sanos con contacto directo con algas en el sitio 1 durante la época lluviosa).
- Realizar los muestreos durante dos años.
- Tomar muestras de agua de mar en la columna de 1 a 5 cm sobre la superficie de las colonias en cada uno de los sitios de muestreo para análisis del microbioma del agua de mar, pasar 1 L de la muestra en filtros Sterivex™ de 0,2 μ ; marcar con los datos del sitio de recolección, se envolverán en papel aluminio estéril, y se congelarán inmediatamente hasta su transporte al laboratorio en la Universidad Jorge Tadeo Lozano, sede Santa Marta, donde se almacenarán a - 80 °C hasta su procesamiento.
- En el laboratorio los tres fragmentos de cada condición serán procesados con diferentes métodos para identificar la comunidad bacteriana asociada con las muestras.
- Realizar análisis estadístico de los microbiomas.

Objetivo específico 2: Identificar en el mucus y tejidos de *M. auretenra* grupos microbianos candidatos a 'microorganismos benéficos para corales'

↪

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

- En laboratorio se aislarán e identificarán cepas bacterianas candidatas a Microorganismos Benéficos para Corales (BMCs) o probióticos; con dos fragmentos provenientes de las colonias sanas en S1 (sitio con mayor incidencia de estresores).
- Evaluar algunas características benéficas para corales tales como: 1) la producción de pigmentos (protección UV), 2) actividad antimicrobiana contra patógenos comunes de corales (p.ej.: *Vibrio* sp aislado de episodios de enfermedad en corales como *Pseudodiploria strigosa*) a través de ensayos de inhibición del crecimiento, difusión en placa y de estría cruzada; 3) actividad reductora de especies reactivas de oxígeno (ROS) por medio de las pruebas catalasa. 4) actividad disruptora de quórum sensing con el biosensor *Chromobacterium violaceum*; 5) producción de sideróforos, y 6) actividad degradadora de contaminantes. Para este último, se evaluarán algunos de los pesticidas de uso comercial de la zona de Santa Marta a través de un ensayo de crecimiento en medio mínimo con 0,1, 0,5, y 1,0 % del pesticida como única fuente de carbono.
- Almacenar las secuencias resultantes en la base de datos del NCBI.

Objetivo específico 3: Evaluar el uso del mucus de *M. auretenra* en la manipulación de la respuesta de fragmentos reclutas frente a la temperatura y un contaminante.

- Emplear el mucus de tres fragmentos (3 x 3 cm) provenientes de las colonias sanas de *M. auretenra* en S1 como inóculo para la manipulación del fenotipo microbiano de fragmentos de coral.
- Establecer un vivero de crías de reclutas, se usarán fragmentos de *M. auretenra* provenientes de las colonias sanas en S2 (sitio con baja incidencia de estresores) y de fragmentos de *Porites porites* (LC) de 3 cm recolectados en sitios con baja perturbación
- Realizar una microfragmentación a 1 x 1 cm, y los fragmentos resultantes se adherirán a pequeñas placas (o pedestales) de cemento con masilla epóxica.
- Aclimatar en tanques con condiciones estables controladas: agua de mar (28 °C, 35 UPS y pH 7,4) ultrafiltrada y estéril, aireación continua, recirculación con filtro, con rocas vivas (filtración microbiana/remoción del nitrógeno), fotoperiodos de 12 h luz: 12 h oscuridad, y por tres semanas hasta 20 meses, para el vivero.
- Ajustar la concentración a más o menos 106 – 107 células-ml, para la inoculación del mucus¹, adicionar por baño/directamente en el agua de los contenedores siete veces en intervalos regulares.
- Seleccionar al azar 180 fragmentos del vivero
- Disponer dos acuarios aparte previamente acondicionados, cada uno con 90 fragmentos.
- Inyectar con jeringas estériles en un acuario el mucus preservado se reactivará a temperatura ambiente (25 °C).
- Adicionar en otro acuario, un inóculo a base de agua marina estéril, después de la inoculación, los reclutas, dejar aclimatando por dos semanas.
- Disponer dos series de tres tanques (serie 1 = reclutas inoculados con mucus, serie 2 = reclutas inoculados sin mucus), cada tanque con diez reclutas; en el primer tanque las condiciones serán estables (control); en el segundo, se incrementará la temperatura de 25 a 31 °C a una tasa de 1 °C-semana⁻¹; y en el tercero, se adicionará un pesticida a una concentración de 0,1 a 1,0 mg-L⁻¹ a una tasa de aumento de 0,16 mg-L semana⁻¹, y el cual se escogerá por su uso habitual en la zona de Santa Marta. El experimento tendrá una duración de seis semanas y se realizará por triplicado. Al final, el efecto del aumento de la temperatura y la presencia del pesticida sobre la estabilidad de los reclutas con y sin inóculo del mucus.
- Medir con base a dos respuestas: fisiológica y la aparición de signos de estrés a nivel del tejido. En relación con la respuesta fisiológica, los indicadores serán el crecimiento y la aparición de infecciones microbianas. El crecimiento se medirá en 3D (largo, ancho y alto; en cm³) y 2D (largo y ancho; en cm²), de forma periódica y por medio de fotogrametría.
- Determinar la tasa de crecimiento promedio de los reclutas.
- Observar cualquier indicio de blanqueamiento, necrosis, hiperplasia epidérmica, neoplasias, y reducción del esqueleto para determinar el porcentaje del tejido afectado con respecto al tejido sano.
- Realizar pruebas estadísticas para determinar la existencia de diferencias con relación al control ($p < 0,05$) comparando el crecimiento, las tasas de crecimiento, y la proporción tejido sano/tejido con signo de estrés.
- Realizar la verificación de la manipulación del fenotipo microbiano en laboratorio.

Sobre los especímenes, su conservación y movilización

Se coleccionarán 150 fragmentos de *Madracis auretenra*, 50 fragmentos de *Porites porites* y 6 muestras de 120ml de mucus de *Pseudodiploria strigosa*.

Cada fragmento de las colonias (que incluye el mucus y el tejido del coral) se desprenderá utilizando martillo y cincel, se almacenarán en bolsas de polietileno estériles, y se refrigerarán a 4 °C hasta su transporte al laboratorio. Una vez allí, se realizarán cinco lavados con agua de mar estéril por 10 s con el fin de remover material particulado y los microorganismos débilmente adheridos.

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

Sobre las especies amenazadas, endémicas o vedadas

Se coleccionarán corales de las especies: *Madracis auretenra*, *Porites porites* y *Pseudodiploria strigosa* catalogadas por la UICN como en preocupación menor (LC).

Sobre los equipos y materiales de campo

Para la realización de las actividades en campo dentro del PNN Tayrona se utilizarán los siguientes materiales y equipos: Equipo de buceo autónomo, Sonda multiparámetro, GPS, Pinza/tenaza estéril, Bolsas Ziploc estériles, Botella Hidrográfica estéril, Botella de vidrio estéril, Nevera con hielo seco, Nitrógeno líquido, Etiquetas plásticas, Cuadrante 0,5 x 0,5 m, Flexómetro 30 m y Filtros de 0,2 micras

Respecto a la consulta previa

Dentro de la documentación relacionada por el solicitante, se encuentra la Resolución Número ST-1296 del 23 de septiembre de 2021, que se resuelve: “Que para las actividades y características que comprenden el proyecto: **“DINÁMICA DEL MICROBIOMA DE MADRACIS AURETENRA (SCLERACTINIA: POCILLOPORIDAE) Y RESPUESTA FENOTÍPICA DE RECLUTAS A ESTRESORES AMBIENTALES”**, que se localizara en el municipio de Santa Marta (Bahía de Chengue, Bahía de Neguanje, Isla Aguja e Inca Inca) en el departamento del Magdalena, no procede la realización del proceso de consulta previa”

CONCEPTO

Una vez evaluada la documentación remitida y teniendo en cuenta las consideraciones técnicas, Parques Nacionales Naturales considera **VIABLE** otorgar el permiso individual de recolección para la realización del proyecto titulado: **“Dinámica del microbioma de *Madracis auretenra* (Scleractinia: Pocilloporidae) y respuesta fenotípica de reclutas a estresores ambientales”**. durante un periodo de dos (02) años.

Es importante resaltar que, el PNN Tayrona se encuentra inmerso dentro del territorio sagrado de los cuatro pueblos indígenas de la Sierra Nevada de Santa Marta, lo que implica que se posee un ordenamiento dictado por las propias culturas, como expresión de los sistemas de conocimiento de los pueblos y comunidades que las habitan o usan de alguna manera, y que se concretan en usos, costumbres, prácticas tradicionales y sistemas regulatorios propios. Lo que conlleva a un régimen jurídico y de manejo especial, que se diferencia o constituye una excepción al régimen general previsto en la ley para las áreas que no son habitadas o usadas por grupos étnicos; un régimen especial que el Decreto 622 de 1977 reconoce en su artículo 7 compilado en el Decreto 1076 de 2015 en el artículo 2.2.2.1.9.2. y que a la luz de la Constitución Política de 1991 y la doctrina constitucional resulta indudable y a la vez perentorio dar expresión y desarrollo.

Por lo anterior y teniendo en cuenta que, el reconocimiento de los derechos culturales y territoriales de los cuatro pueblos indígenas de la Sierra Nevada de Santa Marta no se trata de solo un asunto de denominación, si no el respeto y la garantía de los derechos de las comunidades étnicas, el área protegida del PNN Tayrona expresa la necesidad que este proyecto sea socializado a los pueblos indígenas de la SNSM, ya que hacen parte de la estructura de comanejo basados en la gobernanza del territorio, planteada en el instrumento de gestión del área protegida.

La viabilidad del permiso individual de recolección de especímenes de especies silvestres de la diversidad biológica para el presente proyecto de investigación, está sujeta a las siguientes consideraciones:

1. MÉTODOS, MOVILIZACIONES Y PERSONAL AUTORIZADO EN EL PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN

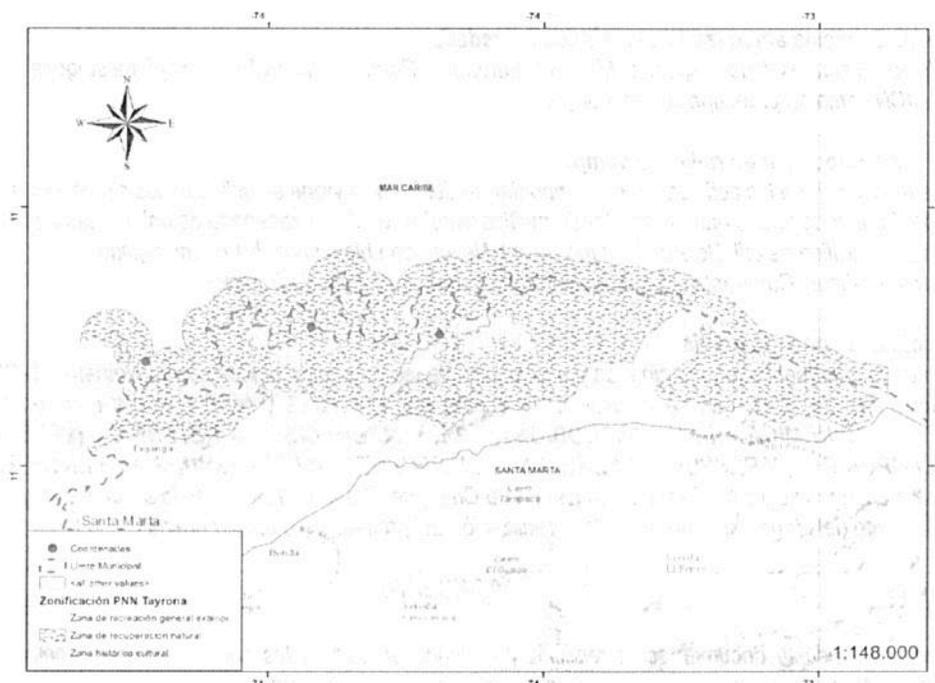
a. Respecto a los sitios y tiempo de muestreo

De acuerdo con la verificación de coordenadas por parte del SGM-GSIR mediante concepto técnico No. 20212400000726 donde se establece lo siguiente:

“...Las 3 coordenadas se encuentran al interior del Parque Nacional Natural Tayrona, traslapadas con la categoría de zona de recuperación natural...”

50

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”



Salida grafica con los puntos de interés del proyecto en el PNN Tayrona según concepto técnico de verificación de coordenadas SGM-GSIR...”

Previo a cada salida de campo, El solicitante deberá evaluar con el jefe del PNN Tayrona o sus delegados la pertinencia, condiciones de acceso y seguridad a los sitios de muestreo.

b. Respecto a los métodos y número de muestras

El investigador el correo electrónico del 23 de noviembre 2021 aclara que: “El Sitio 1 corresponde al sector de Inca Inca, Bahía de Santa Marta, fuera del PNN Tayrona”, por lo que las actividades que se relatarían en el sector 1, no son incluidas en las actividades autorizadas en el presente concepto técnico.

Se autorizan las siguientes actividades:

Objetivo específico 1: Comparar el microbioma del mucus y tejido de diferentes colonias sanas y con algún signo de deterioro de *M. auretenra* teniendo en cuenta la ubicación, la época climática y la interacción con algas.

Caracterización de los sitios de muestreo

- *Establecer dos sitios de muestreo, el sitio 1 (S1) en el sector de Inca Inca en donde existe una formación coralina dominada por *Madracis auretenra*, y el cual a su vez está influenciado por la pluma del río Gaira, el Canal de la Escollera, y los asentamientos urbanos del Rodadero-Gaira y Santa Marta. El sitio 2 (S2) corresponderá al sector de Bahía Chengue-Neguanje-Isla Aguja, en donde se ha reportado previamente formaciones arrecifales bien establecidas con la presencia de *M. auretenra*, y el cual a su vez hace parte del PNNT y se encuentra a mayor distancia de la influencia de los ríos y asentamientos urbanos de la zona.*
- *Tomar tres muestras de agua a una profundidad de 3 y 10m en tres puntos seleccionados al azar dentro del sitio de muestreo.*
- *Refrigerar las muestras a 4 °C hasta su transporte a un laboratorio certificado (p.ej.: LABCAM del INVEMAR) con el fin de obtener información de las variables fisicoquímicas: oxígeno disuelto, nutrientes (nitritos, nitratos, amonio y ortofosfatos), y sólidos suspendidos totales (SST), así como para la detección de posibles contaminantes (Narayanan et al., 2016).*
- *Medir la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto.*
- *Identificar parches coralinos que contengan a *M. auretenra*.*
- *Hacer un barrido de la cobertura coral-alga, colocando alternativamente de izquierda-derecha 60 fotocuadrantes de 0,5 x 0,5 m a lo largo de una banda transecto de 2 x 15 m y a una profundidad constante de más o menos 10 m.*
- *Analizar las imágenes por medio del programa PhotoQuad (Trygonis y Sini, 2012).*
- *Estimar la cobertura seleccionando de 25 a 100 puntos aleatorios por cuadrante, en cada punto se determinará la presencia de alguna de las tres categorías: coral vivo, coral muerto y alga. Dentro de la*

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

categoría alga, se establecerán tres subcategorías: algas frondosas, cespitosas (filamentosas + cianobacterias) y costrosas coralinas.

- Determinar el cociente de cobertura coral-alga (cociente entre el % de coral vivo y el % de alga) para cada parche coralino en cada sitio.
- Calcular el Índice de Salud Arrecifal (ISA) para la comunidad bentónica coralina.
- Determinar el porcentaje de interacción coral-alga exclusivamente cuando hay contacto entre *M. auretenra* y el alga.
- Estimar la frecuencia de contacto, empleando dos transectos replicados de 15 m por sitio a una profundidad constante de 10 m, en los parches donde se observe contacto *M. auretenra* y el alga.
- Estimar el diámetro de la colonia (o longitud de la rama) y la longitud del borde del coral en contacto con el alga para determinar tres categorías: coral sobrecreciendo el alga ('coral ganando'), alga sobrecreciendo el coral ('coral perdiendo') y aparentemente neutra (no hay sobrecrecimiento de ninguno).

Análisis del microbioma de *M. auretenra*

- Recolectar las muestras siguiendo un diseño jerárquico anidado con cuatro factores cada uno con dos niveles: sitio (1 y 2), época climática (seca, lluviosa), interacción con alga (con contacto, sin contacto), y estado de la colonia (sana, con deterioro).
- Emplear un muestreo aleatorio simple.
- Marcar tres colonias donadoras para cada condición anidada, se asegurará que cada colonia presente similar largo de las ramas (cm).
- Tomar de cada colonia dos fragmentos de 3 cm ($n = 6$ por condición; p.ej.: seis fragmentos sanos con contacto directo con algas en el sitio 1 durante la época lluviosa).
- Realizar los muestreos durante dos años.
- Tomar muestras de agua de mar en la columna de 1 a 5 cm sobre la superficie de las colonias en cada uno de los sitios de muestreo para análisis del microbioma del agua de mar, pasar 1 L de la muestra en filtros Sterivex™ de 0,2 μ ; marcar con los datos del sitio de recolección, se envolverán en papel aluminio estéril, y se congelarán inmediatamente hasta su transporte al laboratorio en la Universidad Jorge Tadeo Lozano, sede Santa Marta, donde se almacenarán a -80 °C hasta su procesamiento.
- En el laboratorio los tres fragmentos de cada condición serán procesados con diferentes métodos para identificar la comunidad bacteriana asociada con las muestras.
- Realizar análisis estadístico de los microbiomas.

Objetivo específico 2: Identificar en el mucus y tejidos de *M. auretenra* grupos microbianos candidatos a 'microorganismos benéficos para corales'

- En laboratorio se aislarán e identificarán cepas bacterianas candidatas a Microorganismos Benéficos para Corales (BMCs) o probióticos; con dos fragmentos provenientes de las colonias sanas en S1 (sitio con mayor incidencia de estresores).
- Evaluar algunas características benéficas para corales tales como: 1) la producción de pigmentos (protección UV), 2) actividad antimicrobiana contra patógenos comunes de corales (p.ej.: *Vibrio* sp aislado de episodios de enfermedad en corales como *Pseudodiploria strigosa*) a través de ensayos de inhibición del crecimiento, difusión en placa y de estría cruzada; 3) actividad reductora de especies reactivas de oxígeno (ROS) por medio de las pruebas catalasa. 4) actividad disruptora de quórum sensing con el biosensor *Chromobacterium violaceum*; 5) producción de sideróforos, y 6) actividad degradadora de contaminantes. Para este último, se evaluarán algunos de los pesticidas de uso comercial de la zona de Santa Marta a través de un ensayo de crecimiento en medio mínimo con 0,1, 0,5, y 1,0 % del pesticida como única fuente de carbono.
- Almacenar las secuencias resultantes en la base de datos del NCBI.

Objetivo específico 3: Evaluar el uso del mucus de *M. auretenra* en la manipulación de la respuesta de fragmentos reclutas frente a la temperatura y un contaminante.

- Emplear el mucus de tres fragmentos (3 x 3 cm) provenientes de las colonias sanas de *M. auretenra* en S1 como inóculo para la manipulación del fenotipo microbiano de fragmentos de coral.
- Establecer un vivero de crías de reclutas, se usarán fragmentos de *M. auretenra* provenientes de las colonias sanas en S2 (sitio con baja incidencia de estresores) y de fragmentos de *Porites porites* (LC) de 3 cm recolectados en sitios con baja perturbación
- Realizar una microfragmentación a 1 x 1 cm, y los fragmentos resultantes se adherirán a pequeñas placas (o pedestales) de cemento con masilla epóxica.
- Aclimatar en tanques con condiciones estables controladas: agua de mar (28 °C, 35 UPS y pH 7,4) ultrafiltrada y estéril, aireación continua, recirculación con filtro, con rocas vivas (filtración microbiana/remoción del nitrógeno), fotoperiodos de 12 h luz: 12 h oscuridad, y por tres semanas hasta 20 meses, para el vivero.

5

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

- Ajustar la concentración a más o menos 106 – 107 células-ml, para la inoculación del mucus¹, adicionar por baño/directamente en el agua de los contenedores siete veces en intervalos regulares.
- Seleccionar al azar 180 fragmentos del vivero
- Disponer dos acuarios aparte previamente acondicionados, cada uno con 90 fragmentos.
- Inyectar con jeringas estériles en un acuario el mucus preservado se reactivará a temperatura ambiente (25 °C).
- Adicionar en otro acuario, un inóculo a base de agua marina estéril, después de la inoculación, los reclutas, dejar aclimatando por dos semanas.
- Disponer dos series de tres tanques (serie 1 = reclutas inoculados con mucus, serie 2 = reclutas inoculados sin mucus), cada tanque con diez reclutas; en el primer tanque las condiciones serán estables (control); en el segundo, se incrementará la temperatura de 25 a 31 °C a una tasa de 1 °C-semana-1; y en el tercero, se adicionará un pesticida a una concentración de 0,1 a 1,0 mg-L-1 a una tasa de aumento de 0,16 mg-L semana-1, y el cual se escogerá por su uso habitual en la zona de Santa Marta. El experimento tendrá una duración de seis semanas y se realizará por triplicado. Al final, el efecto del aumento de la temperatura y la presencia del pesticida sobre la estabilidad de los reclutas con y sin inóculo del mucus.
- Medir con base a dos respuestas: fisiológica y la aparición de signos de estrés a nivel del tejido. En relación con la respuesta fisiológica, los indicadores serán el crecimiento y la aparición de infecciones microbianas. El crecimiento se medirá en 3D (largo, ancho y alto; en cm³) y 2D (largo y ancho; en cm²), de forma periódica y por medio de fotogrametría.
- Determinar la tasa de crecimiento promedio de los reclutas.
- Observar cualquier indicio de blanqueamiento, necrosis, hiperplasia epidérmica, neoplasias, y reducción del esqueleto para determinar el porcentaje del tejido afectado con respecto al tejido sano.
- Realizar pruebas estadísticas para determinar la existencia de diferencias con relación al control ($p < 0,05$) comparando el crecimiento, las tasas de crecimiento, y la proporción tejido sano/tejido con signo de estrés.
- Realizar la verificación de la manipulación del fenotipo microbiano en laboratorio.

El investigador debe hacer seguimiento durante los dos años de permiso, al estado de las colonias de corales donde se tomó la muestra, como parte de conocer los efectos de la fragmentación de estas colonias para toma de muestras.

El equipo de trabajo deberá tomar las medidas para evitar afectar el ecosistema y sus especies de flora y fauna durante la realización de los métodos expuestos.

Todas las actividades autorizadas deberán ser realizadas con el acompañamiento del personal que designe el jefe del PNN Tayrona.

Una vez terminadas las actividades de campo, el equipo de trabajo deberá garantizar el buen estado del ecosistema, cerciorándose que todo objeto extraño bien sea de medición, herramienta de recolección o transporte de muestras sean manejados y dispuestos de manera adecuada y según indicaciones del Parque.

c. Sobre las especies amenazadas, endémicas o vedadas

Se coleccionarán corales de las especies: *Madracis auretenra*, *Porites porites* y *Pseudodiploria strigosa* catalogadas por la UICN como en preocupación menor (LC).

d. Respecto a los equipos y elementos de campo

Se autoriza el uso de los siguientes equipos y materiales:

- Equipo de buceo autónomo
- Sonda multiparámetro
- GPS
- Pinza/tenaza estéril
- Bolsas Ziploc estériles
- Botella Hidrográfica estéril
- Botella de vidrio estéril
- Nevera con hielo seco
- Nitrógeno líquido
- Etiquetas plásticas
- Cuadrante 0,5 x 0,5 m
- Flexómetro 30 m
- Filtros de 0,2 micras

e. Sobre los especímenes, su conservación y movilización

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

Se coleccionarán 150 fragmentos de *Madracis auretenra*, 50 fragmentos de *Porites porites* y 6 muestras de 120ml de mucus de *Pseudodiploria strigosa*.

Cada fragmento de las colonias (que incluye el mucus y el tejido del coral) se desprenderá utilizando martillo y cincel, se almacenarán en bolsas de polietileno estériles, y se refrigerarán a 4 °C hasta su transporte al laboratorio. Una vez allí, se realizarán cinco lavados con agua de mar estéril por 10 s con el fin de remover material particulado y los microorganismos débilmente adheridos.

El investigador en correo electrónico del 23 de noviembre de 2021 aclara que: “Con el fin de evitar la transferencia horizontal de microorganismos entre ambientes, y prever cualquier tipo de contaminación que pueda derivar, se sugiere como destino final de las muestras tratarlas como residuos biológicos”.

Cada vez que el equipo de trabajo colecciona muestras para ser retirados del PNN Tayrona deberán permitir que el personal encargado del Parque revise, registre y cuente dichas muestras, anotando el número y tipo de muestras recolectadas, la fecha y los sitios exactos de recolección.

Bajo ninguna circunstancia se aprueba la recolecta, captura, caza, pesca, manipulación o movilización de especímenes de flora o fauna diferentes a los previamente aprobados.

Dado que los especímenes de referencia serán utilizados para los análisis de campo y laboratorio, El solicitante deberá suministrar al Sistema Información en Biodiversidad Colombia (SiB) la información asociada al permiso, entregando la constancia emitida por dicho sistema. Para su constancia deberá enviar la copia a la jefe del PNN Tayrona y a la Subdirección de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas de Parques Nacionales Naturales a través del correo electrónico permisos.investigacion@parquesnacionales.gov.co.

Se solicita la certificación de depósito de los especímenes recolectados a una colección avalada por el Instituto Alexander von Humboldt.

Lo anterior de acuerdo con lo establecido en el artículo 2.2.2.8.3.3 del Decreto 1076 de 2015.

f. Respetto al personal

Para la implementación de los métodos en la investigación, se aprueba el ingreso del equipo de trabajo al PNN Tayrona quienes deberán tener en cuenta la reglamentación establecida en el Área Protegida, así como las recomendaciones y restricciones señaladas por el Jefe del Parque, sus funcionarios y/o contratistas. Las personas autorizadas son las siguientes:

	Nombre	Profesión	Documento identidad
Responsable del proyecto	Jordan Estiven Ruiz Toquica	Biólogo marino Máster en Microbiología	C.C. 1.013.613.746
Coinvestigador	Andrés Franco Herrera	Biólogo Marino, PhD. en Oceanografía	C.C. 79.248.850
Asistente de investigación	Carolina Herrera Khenayzir	Estudiante de pregrado Universidad Jorge Tadeo Lozano	C.C. 1.053.611.547
Asistente de investigación	Angie Natalie Díaz Ruiz	Estudiante de pregrado Universidad Jorge Tadeo Lozano	C.C. 1.234.338.909

El solicitante deberá acordar con el jefe del PNN Tayrona el acompañamiento y apoyo necesario para la implementación de la metodología presentada y remitir al SGM-GTEA a través de correo electrónico permisos.investigacion@parquesnacionales.gov.co el nombre y número de identificación del personal.

g. Respetto a la consulta previa

Dentro de la documentación relacionada por el solicitante, se encuentra la Resolución Número ST-1296 del 23 de septiembre de 2021, que se resuelve : “Que para las actividades y características que comprenden el proyecto: **“DINÁMICA DEL MICROBIOMA DE MADRACIS AURETENRA (SCLERACTINIA: POCILLOPORIDAE) Y RESPUESTA FENOTÍPICA DE RECLUTAS A ESTRESORES AMBIENTALES”**, que se localizara en el municipio de Santa Marta (Bahía de Chengue, Bahía de Neguanje, Isla Aguja e Inca Inca) en el departamento del Magdalena, no procede la realización del proceso de consulta previa”



“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

h. Sobre el protocolo de bioseguridad

En términos de la Emergencia Sanitaria por COVID-19, el responsable del proyecto debe garantizar que el protocolo de bioseguridad presentado cumpla con lo estipulado en la Resolución No. 666 de 2020 del Ministerio de Salud y Protección Social, así como la Resolución No. 158 de 2020 de Parques Nacionales Naturales. Además, los investigadores deberán acatar todas las recomendaciones desde el Área Protegida y ajustarse a los protocolos de bioseguridad nacional que mitiguen y prevengan el contagio por la Covid-19

2. OBLIGACIONES DEL TITULAR DEL PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN

- a.** *El solicitante y su equipo de trabajo deberá cumplir con lo señalado y autorizado previamente con respecto a los métodos, movilizaciones y personal.*
- b.** *El solicitante deberá realizar dos socializaciones en el PNN Tayrona, la primera será una presentación ante el equipo de trabajo del Área Protegida, en donde se expliquen los objetivos, metodología y los resultados esperados en el proyecto. La segunda socialización, será acordada con el Jefe del Parque y tendrá como objetivo presentar los resultados finales del proyecto y la contribución de éstos al Área Protegida.*
- c.** *El solicitante deberá comunicar al PNN Tayrona con previa anticipación y bajo cronograma de actividades, las fechas de recolección de datos en campo, con el fin de realizar el seguimiento correspondiente por parte del equipo técnico del Parque.*
- d.** *El solicitante será la responsable del cumplimiento de los compromisos adquiridos con Parques Nacionales Naturales.*
- e.** *El solicitante deberá acogerse a las obligaciones y prohibiciones establecidas en los Artículos 2.2.2.1.14.1 y 2.2.2.1.15.1 del Decreto 1076 de 2015 y otras normas específicas del Área Protegida autorizada para realizar la investigación.*
- f.** *El solicitante deberá asumir los costos de desplazamiento, alojamiento y demás que implique el desarrollo de las actividades autorizadas, para lo cual deberá coordinar lo pertinente con el Jefe del Área Protegida, conforme lo establece la Resolución No. 0152 del 24 de abril de 2017 por la cual se modifica la Resolución 245 del 06 de julio de 2012. Para el caso del pago por derecho de ingreso a las Áreas Protegidas, el equipo de trabajo queda exento de acuerdo con el Artículo séptimo de esta misma resolución.*
- g.** *El solicitante deberá atender las recomendaciones y la charla de inducción ofrecida por el personal de Parques Nacionales Naturales.*
- h.** *El solicitante deberá hacer un buen manejo de los residuos sólidos durante su permanencia, para esto se recomienda llevárselos fuera del Área Protegida una vez termine cada salida de campo.*
- i. Entrega de informes parciales y final**
Con el propósito de socializar los resultados obtenidos, el solicitante deberá entregar constancia de un (01) informe parcial y un (01) informe final obtenido de la investigación, de la siguiente manera: una copia (impresa y una digital) al PNN Tayrona, una copia (digital) a la Dirección Territorial Caribe y una copia (digital) a la Subdirección de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas de Parques Nacionales Naturales. Se deberá entregar el informe final seis (06) meses después contados a partir de la finalización del tiempo otorgado para la ejecución del proyecto
- Anexo al informe final se deberá presentar el “Formato para la Relación del Material Recolectado del Medio Silvestre”. Lo anterior conforme al artículo 2.2.2.8.3.3 del Decreto 1076 de 2015.
Parques Nacionales Naturales de Colombia podrá solicitar en cualquier momento de la investigación un informe en el caso que lo considere necesario.*
- j. Suministrar información al Sistema de Información en Biodiversidad de Colombia –SIB-**
El solicitante deberá suministrar al SIB la información asociada con los especímenes recolectados, como evidencia de ello se deberá adjuntar al informe final la constancia de entrega emitida por dicho sistema. Lo anterior conforme al artículo 2.2.2.8.3.3 del Decreto 1076 de 2015.
- k. Divulgación**

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

El solicitante podrá utilizar el material filmico y/o fotográfico obtenido en el desarrollo de su permiso de recolección solo con fines de investigación y en ningún caso con fines comerciales.

Si el material filmico y/o fotográfico obtenido en el marco del permiso individual de recolección va a ser utilizado con fines comerciales, el solicitante deberá tramitar ante Parques Nacionales Naturales el permiso de uso posterior de filmación y fotografía de acuerdo con lo establecido mediante Resolución 396 de 2015.

De igual forma, el solicitante deberá dar los créditos correspondientes a Parques Nacionales Naturales en las publicaciones nacionales e internacionales derivadas de los resultados obtenidos en el marco del presente permiso individual de recolección.

- I. Parques Nacionales Naturales no se hace responsable por accidentes o cualquier incidente, el equipo de trabajo pueda tener dentro del Área Protegida autorizada para la investigación, durante el tiempo que contemple el permiso, de conformidad con teniendo en cuenta la normatividad vigente al respecto. Finalmente, se recomienda al solicitante informarse previamente con las autoridades civiles y militares, sobre las situaciones de orden público que puedan influir en el área objeto de estudio.*

3. SEGUIMIENTO POR PARTE DEL ÁREA PROTEGIDA

El responsable del seguimiento en campo del permiso individual de recolección en el PNN Tayrona será el Jefe del Área Protegida o a quien el designe. El Jefe del Área Protegida deberá remitir al Grupo de Trámites y Evaluación Ambiental de la Subdirección de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas un informe de cumplimiento de las obligaciones contenidas en el acto administrativo e informar de eventuales irregularidades presentadas durante el desarrollo de la fase de campo. Lo anterior no exime a la Jefe del Área Protegida de remitir información relacionada durante la ejecución del proyecto cuando se considere necesario o la SGM-GTEA lo requiera. ”

En vista de lo anterior, y tomando en consideración las especificaciones técnicas establecidas en el concepto técnico arriba descrito, la Subdirección de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas de Parques Nacionales Naturales considera **VIABLE** otorgar el permiso individual de recolección de especímenes de especies silvestres de la diversidad biológica con fines de investigación científica no comercial para la ejecución del proyecto denominado “*Dinámica del microbioma de *Madracis auretenra* (*Scleractinia: Pocilloporidae*) y respuesta fenotípica de reclutas a estresores ambientales.*”, a desarrollarse durante dos (2) años, al interior del Parque Nacional Natural Tayrona, elevado por el señor **JORDAN ESTIVEN RUIZ TOQUICA**, identificado con cédula de ciudadanía No. 1.013.613.746.

En consideración a lo anteriormente expuesto, la Subdirectora de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas de Parques Nacionales Naturales de Colombia,

RESUELVE

ARTÍCULO PRIMERO.- OTORGAR Permiso Individual de Recolección de Especímenes de Especies Silvestres de la Diversidad Biológica con Fines de Investigación Científica No Comercial al señor **JORDAN ESTIVEN RUIZ TOQUICA**, identificado con cédula de ciudadanía No. 1.013.613.746, para la realización del proyecto denominado “*Dinámica del microbioma de *Madracis auretenra* (*Scleractinia: Pocilloporidae*) y respuesta fenotípica de reclutas a estresores ambientales*”, a desarrollarse durante dos (2) años al interior del Parque Nacional Natural Tayrona, de conformidad con lo expuesto en la parte motiva del presente acto administrativo.

ARTÍCULO SEGUNDO.- El señor **JORDAN ESTIVEN RUIZ TOQUICA**, identificado con cédula de ciudadanía No. 1.013.613.746, en relación con los métodos, movilizaciones y personal autorizado, deberá cumplir a cabalidad con las especificaciones técnicas que se relacionan a continuación:

a. Respecto a los sitios y tiempo de muestreo

Se aprueba el ingreso al Parque Nacional Natural Tayrona, durante dos (2) años, para realizar actividades de muestreo y recolección en los puntos señalados por el señor **JORDAN ESTIVEN RUIZ TOQUICA**, identificado con cédula de ciudadanía No. 1.013.613.746,

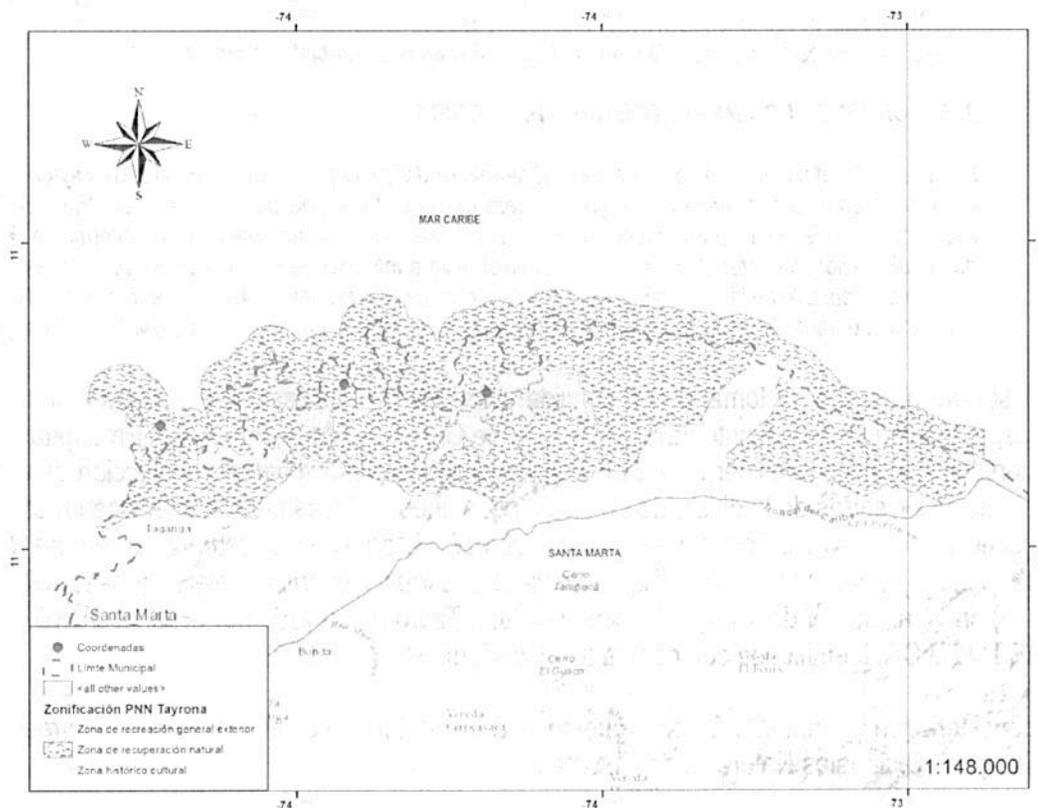
✍

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

verificadas por parte del SGM-GSIR mediante Concepto Técnico No. 2021240000726 del 2 de noviembre de 2021, en donde se señaló lo siguiente:

“Luego de verificar la información suministrada, se confronta con la información que posee Parques Nacionales Naturales se determina lo siguiente.

las 3 coordenadas se encuentran al interior del Parque Nacional Natural Tayrona, traslapadas con la categoría de zona de recuperación natural... “



El investigador principal previo a cada salida de campo, deberá informar con mínimo 15 días de antelación, las fechas en las que se pretende entrar al área protegida, con el fin de coordinar el ingreso, el acompañamiento, y evaluar con el Jefe del Área Protegida o sus delegados, la pertinencia, condiciones de acceso y seguridad a los sitios de muestreo autorizados.

b. Respecto a los métodos y número de muestras

El investigador en correo electrónico del 23 de noviembre 2021 aclara que: *“El Sitio 1 corresponde al sector de Inca Inca, Bahía de Santa Marta, fuera del PNN Tayrona”*, por lo que las actividades que se relajarían en el sector 1, no son incluidas en las actividades autorizadas en el presente concepto técnico.

Se autorizan las siguientes actividades:

Objetivo específico 1: Comparar el microbioma del mucus y tejido de diferentes colonias sanas y con algún signo de deterioro de *M. auretenra* teniendo en cuenta la ubicación, la época climática y la interacción con algas.

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

Caracterización de los sitios de muestreo

- Establecer dos sitios de muestreo, el sitio 1 (S1) en el sector de Inca Inca en donde existe una formación coralina dominada por *Madracis auretenra*, y el cual a su vez está influenciado por la pluma del río Gaira, el Canal de la Escollera, y los asentamientos urbanos del Rodadero-Gaira y Santa Marta. El sitio 2 (S2) corresponderá al sector de Bahía Chengue-Neguanje-Isla Aguja, en donde se ha reportado previamente formaciones arrecifales bien establecidas con la presencia de *M. auretenra*, y el cual a su vez hace parte del PNNT y se encuentra a mayor distancia de la influencia de los ríos y asentamientos urbanos de la zona.
- Tomar tres muestras de agua a una profundidad de 3 y 10m en tres puntos seleccionados al azar dentro del sitio de muestreo.
- Refrigerar las muestras a 4 °C hasta su transporte a un laboratorio certificado (p.ej.: LABCAM del INVEMAR) con el fin de obtener información de las variables fisicoquímicas: oxígeno disuelto, nutrientes (nitritos, nitratos, amonio y ortofosfatos), y sólidos suspendidos totales (SST), así como para la detección de posibles contaminantes (Narayanan et al., 2016).
- Medir la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto.
- Identificar parches coralinos que contengan a *M. auretenra*.
- Hacer un barrido de la cobertura coral-alga, colocando alternativamente de izquierda-derecha 60 fotocuadrantes de 0,5 x 0,5 m a lo largo de una banda transecto de 2 x 15 m y a una profundidad constante de más o menos 10 m.
- Analizar las imágenes por medio del programa PhotoQuad (Trygonis y Sini, 2012).
- Estimar la cobertura seleccionando de 25 a 100 puntos aleatorios por cuadrante, en cada punto se determinará la presencia de alguna de las tres categorías: coral vivo, coral muerto y alga. Dentro de la categoría alga, se establecerán tres subcategorías: algas frondosas, cespitosas (filamentosas + cianobacterias) y costrosas coralinas.
- Determinar el cociente de cobertura coral-alga (cociente entre el % de coral vivo y el % de alga) para cada parche coralino en cada sitio.
- Calcular el Índice de Salud Arrecifal (ISA) para la comunidad bentónica coralina.
- Determinar el porcentaje de interacción coral-alga exclusivamente cuando hay contacto entre *M. auretenra* y el alga.
- Estimar la frecuencia de contacto, empleando dos transectos replicados de 15 m por sitio a una profundidad constante de 10 m, en los parches donde se observe contacto *M. auretenra* y el alga.
- Estimar el diámetro de la colonia (o longitud de la rama) y la longitud del borde del coral en contacto con el alga para determinar tres categorías: coral sobrecreciendo el alga ('coral ganando'), alga sobrecreciendo el coral ('coral perdiendo') y aparentemente neutra (no hay sobrecrecimiento de ninguno).

Análisis del microbioma de *M. auretenra*

- Recolectar las muestras siguiendo un diseño jerárquico anidado con cuatro factores cada uno con dos niveles: sitio (1 y 2), época climática (seca, lluviosa), interacción con alga (con contacto, sin contacto), y estado de la colonia (sana, con deterioro).
- Emplear un muestreo aleatorio simple.
- Marcar tres colonias donadoras para cada condición anidada, se asegurará que cada colonia presente similar largo de las ramas (cm).
- Tomar de cada colonia dos fragmentos de 3 cm (n = 6 por condición; p.ej.: seis fragmentos sanos con contacto directo con algas en el sitio 1 durante la época lluviosa).
- Realizar los muestreos durante dos años.

50

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

- Tomar muestras de agua de mar en la columna de 1 a 5 cm sobre la superficie de las colonias en cada uno de los sitios de muestreo para análisis del microbioma del agua de mar, pasar 1 L de la muestra en filtros Sterivex™ de 0,2 µ; marcar con los datos del sitio de recolección, se envolverán en papel aluminio estéril, y se congelarán inmediatamente hasta su transporte al laboratorio en la Universidad Jorge Tadeo Lozano, sede Santa Marta, donde se almacenarán a – 80 °C hasta su procesamiento.
- En el laboratorio los tres fragmentos de cada condición serán procesados con diferentes métodos para identificar la comunidad bacteriana asociada con las muestras.
- Realizar análisis estadístico de los microbiomas.

Objetivo específico 2: Identificar en el mucus y tejidos de *M. auretenra* grupos microbianos candidatos a 'microorganismos benéficos para corales'

- En laboratorio se aislarán e identificarán cepas bacterianas candidatas a Microorganismos Benéficos para Corales (BMCs) o probióticos; con dos fragmentos provenientes de las colonias sanas en S1 (sitio con mayor incidencia de estresores).
- Evaluar algunas características benéficas para corales tales como: 1) la producción de pigmentos (protección UV), 2) actividad antimicrobiana contra patógenos comunes de corales (p.ej.: *Vibrio* sp aislado de episodios de enfermedad en corales como *Pseudodiploria strigosa*) a través de ensayos de inhibición del crecimiento, difusión en placa y de estría cruzada; 3) actividad reductora de especies reactivas de oxígeno (ROS) por medio de las pruebas catalasa. 4) actividad disruptora de quórum sensing con el biosensor *Chromobacterium violaceum*; 5) producción de sideróforos, y 6) actividad degradadora de contaminantes. Para este último, se evaluarán algunos de los pesticidas de uso comercial de la zona de Santa Marta a través de un ensayo de crecimiento en medio mínimo con 0,1, 0,5, y 1,0 % del pesticida como única fuente de carbono.
- Almacenar las secuencias resultantes en la base de datos del NCBI.

Objetivo específico 3: Evaluar el uso del mucus de *M. auretenra* en la manipulación de la respuesta de fragmentos reclutas frente a la temperatura y un contaminante.

- Emplear el mucus de tres fragmentos (3 x 3 cm) provenientes de las colonias sanas de *M. auretenra* en S1 como inóculo para la manipulación del fenotipo microbiano de fragmentos de coral.
- Establecer un vivero de crías de reclutas, se usarán fragmentos de *M. auretenra* provenientes de las colonias sanas en S2 (sitio con baja incidencia de estresores) y de fragmentos de *Porites porites* (LC) de 3 cm recolectados en sitios con baja perturbación
- Realizar una microfragmentación a 1 x 1 cm, y los fragmentos resultantes se adherirán a pequeñas placas (o pedestales) de cemento con masilla epóxica.
- Aclimatar en tanques con condiciones estables controladas: agua de mar (28 °C, 35 UPS y pH 7,4) ultrafiltrada y estéril, aireación continua, recirculación con filtro, con rocas vivas (filtración microbiana/remoción del nitrógeno), fotoperiodos de 12 h luz: 12 h oscuridad, y por tres semanas hasta 20 meses, para el vivero.
- Ajustar la concentración a más o menos 10⁶ – 10⁷ células-ml, para la inoculación del mucus, adicionar por baño/directamente en el agua de los contenedores siete veces en intervalos regulares.
- Seleccionar al azar 180 fragmentos del vivero
- Disponer dos acuarios aparte previamente acondicionados, cada uno con 90 fragmentos.
- Inyectar con jeringas estériles en un acuario el mucus preservado se reactivará a temperatura ambiente (25 °C).
- Adicionar en otro acuario, un inóculo a base de agua marina estéril, después de la inoculación, los reclutas, dejar aclimatando por dos semanas.

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

- Disponer dos series de tres tanques (serie 1 = reclutas inoculados con mucus, serie 2 = reclutas inoculados sin mucus), cada tanque con diez reclutas; en el primer tanque las condiciones serán estables (control); en el segundo, se incrementará la temperatura de 25 a 31 °C a una tasa de 1 °C-semana-1; y en el tercero, se adicionará un pesticida a una concentración de 0,1 a 1,0 mg-L-1 a una tasa de aumento de 0,16 mg-L semana-1, y el cual se escogerá por su uso habitual en la zona de Santa Marta. El experimento tendrá una duración de seis semanas y se realizará por triplicado. Al final, el efecto del aumento de la temperatura y la presencia del pesticida sobre la estabilidad de los reclutas con y sin inóculo del mucus.
- Medir con base a dos respuestas: fisiológica y la aparición de signos de estrés a nivel del tejido. En relación con la respuesta fisiológica, los indicadores serán el crecimiento y la aparición de infecciones microbianas. El crecimiento se medirá en 3D (largo, ancho y alto; en cm³) y 2D (largo y ancho; en cm²), de forma periódica y por medio de fotogrametría.
- Determinar la tasa de crecimiento promedio de los reclutas.
- Observar cualquier indicio de blanqueamiento, necrosis, hiperplasia epidérmica, neoplasias, y reducción del esqueleto para determinar el porcentaje del tejido afectado con respecto al tejido sano.
- Realizar pruebas estadísticas para determinar la existencia de diferencias con relación al control ($p < 0,05$) comparando el crecimiento, las tasas de crecimiento, y la proporción tejido sano/tejido con signo de estrés.
- Realizar la verificación de la manipulación del fenotipo microbiano en laboratorio.

El investigador debe hacer seguimiento durante los dos años de permiso, al estado de las colonias de corales donde se tomó la muestra, como parte de conocer los efectos de la fragmentación de estas colonias para toma de muestras.

El equipo de trabajo deberá tomar las medidas para evitar afectar el ecosistema y sus especies de flora y fauna durante la realización de los métodos expuestos.

Todas las actividades autorizadas deberán ser realizadas con el acompañamiento del personal que designe el jefe del PNN Tayrona.

Una vez terminadas las actividades de campo, el equipo de trabajo deberá garantizar el buen estado del ecosistema, cerciorándose que todo objeto extraño bien sea de medición, herramienta de recolección o transporte de muestras sean manejados y dispuestos de manera adecuada y según indicaciones del Parque.

c. Respecto a las especies amenazadas, endémicas o vedadas.

Se colectarán corales de las especies: *Madracis auretenra*, *Porites porites* y *Pseudodiploria strigosa* catalogadas por la UICN como en preocupación menor (LC).

d. Respecto a los equipos y elementos de campo

Se autoriza el uso de los siguientes equipos y materiales:

- Equipo de buceo autónomo
- Sonda multiparámetro
- GPS
- Pinza/tenaza estéril
- Bolsas Ziploc estériles
- Botella Hidrográfica estéril

✍

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

- Botella de vidrio estéril
- Nevera con hielo seco
- Nitrógeno líquido
- Etiquetas plásticas
- Cuadrante 0,5 x 0,5 m
- Flexómetro 30 m
- Filtros de 0,2 micras

e. Sobre los especímenes, su conservación y movilización

Se coleccionarán 150 fragmentos de *Madracis auretenra*, 50 fragmentos de *Porites porites* y 6 muestras de 120ml de mucus de *Pseudodiploria strigosa*.

Cada fragmento de las colonias (que incluye el mucus y el tejido del coral) se desprenderá utilizando martillo y cincel, se almacenarán en bolsas de polietileno estériles, y se refrigerarán a 4 °C hasta su transporte al laboratorio. Una vez allí, se realizarán cinco lavados con agua de mar estéril por 10 s con el fin de remover material particulado y los microorganismos débilmente adheridos.

El investigador en correo electrónico del 23 de noviembre de 2021 aclara que: “Con el fin de evitar la transferencia horizontal de microorganismos entre ambientes, y prevenir cualquier tipo de contaminación que pueda derivar, se sugiere como destino final de las muestras tratarlas como residuos biológicos”.

Cada vez que el equipo de trabajo colecciona muestras para ser retirados del PNN Tayrona deberán permitir que el personal encargado del Parque revise, registre y cuente dichas muestras, anotando el número y tipo de muestras recolectados, la fecha y los sitios exactos de recolección.

Bajo ninguna circunstancia se aprueba la recolección, captura, caza, pesca, manipulación o movilización de especímenes de flora o fauna diferentes a los previamente aprobados.

Dado que los especímenes de referencia serán utilizados para los análisis de campo y laboratorio, El solicitante deberá suministrar al Sistema Información en Biodiversidad Colombia (SiB) la información asociada al permiso, entregando la constancia emitida por dicho sistema. Para su constancia deberá enviar la copia a la jefe del PNN Tayrona y a la Subdirección de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas de Parques Nacionales Naturales a través del correo electrónico permisos.investigacion@parquesnacionales.gov.co.

Se solicita la certificación de depósito de los especímenes recolectados a una colección avalada por el Instituto Alexander von Humboldt.

Lo anterior de acuerdo con lo establecido en el artículo 2.2.2.8.3.3 del Decreto 1076 de 2015.

f. Respecto al personal

Para la implementación de los métodos en la investigación, se aprueba el ingreso del equipo de trabajo al PNN Tayrona quienes deberán tener en cuenta la reglamentación establecida en el Área Protegida, así como las recomendaciones y restricciones señaladas por el Jefe del Parque, sus funcionarios y/o contratistas. Las personas autorizadas son las siguientes:

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

	Nombre	Profesión	Documento identidad
Responsable del proyecto	Jordan Estiven Ruiz Toquica	Biólogo marino Máster en Microbiología	C.C. 1.013.613.746
Coinvestigador	Andrés Franco Herrera	Biólogo Marino, PhD. en Oceanografía	C.C. 79.248.850
Asistente de investigación	Carolina Herrera Khenayzir	Estudiante de pregrado Universidad Jorge Tadeo Lozano	C.C. 1.053.611.547
Asistente de investigación	Angie Natalie Díaz Ruiz	Estudiante de pregrado Universidad Jorge Tadeo Lozano	C.C. 1.234.338.909

El solicitante deberá acordar con el jefe del PNN Tayrona el acompañamiento y apoyo necesario para la implementación de la metodología presentada y remitir al SGM-GTEA a través de correo electrónico permisos.investigacion@parquesnacionales.gov.co el nombre y número de identificación del personal.

g. Respecto a la consulta previa

Dentro de la documentación relacionada por el solicitante, se encuentra la Resolución Número ST-1296 del 23 de septiembre de 2021, que se resuelve : *“Que para las actividades y características que comprenden el proyecto: **“DINÁMICA DEL MICROBIOMA DE MADRACIS AURETENRA (SCLERACTINIA: POCILLOPORIDAE) Y RESPUESTA FENOTÍPICA DE RECLUTAS A ESTRESORES AMBIENTALES”**, que se localizara en el municipio de Santa Marta (Bahía de Chengue, Bahía de Neguanje, Isla Aguja e Inca Inca) en el departamento del Magdalena, no procede la realización del proceso de consulta previa”*

h. Sobre el protocolo de bioseguridad

En términos de la Emergencia Sanitaria por COVID-19, el responsable del proyecto debe garantizar que el protocolo de bioseguridad presentado cumpla con lo estipulado en la Resolución No. 666 de 2020 del Ministerio de Salud y Protección Social, así como la Resolución No. 158 de 2020 de Parques Nacionales Naturales. Además, los investigadores deberán acatar todas las recomendaciones desde el Área Protegida y ajustarse a los protocolos de bioseguridad nacional que mitiguen y prevengan el contagio por la Covid-19.

ARTÍCULO TERCERO.- El señor **JORDAN ESTIVEN RUIZ TOQUICA**, identificado con cédula de ciudadanía No. 1.013.613.746 y su equipo de trabajo, quedarán sometidos a las siguientes obligaciones:

- a. Cumplir con lo señalado y autorizado previamente con respecto a los métodos, movilizaciones y personal.
- b. Realizar dos socializaciones en el PNN Tayrona, la primera será una presentación ante el equipo de trabajo del Área Protegida, en donde se expliquen los objetivos, metodología y los resultados esperados en el proyecto. La segunda socialización, será acordada con el Jefe del Parque y tendrá como objetivo presentar los resultados finales del proyecto y la contribución de éstos al Área Protegida.

ff

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

- c. Comunicar al PNN Tayrona con previa anticipación y bajo cronograma de actividades, las fechas de recolección de datos en campo, con el fin de realizar el seguimiento correspondiente por parte del equipo técnico del Parque.
- d. El solicitante será la responsable del cumplimiento de los compromisos adquiridos con Parques Nacionales Naturales.
- e. Acogerse a las obligaciones y prohibiciones establecidas en los Artículos 2.2.2.1.14.1 y 2.2.2.1.15.1 del Decreto 1076 de 2015 y otras normas específicas del Área Protegida autorizada para realizar la investigación.
- f. Asumir los costos de desplazamiento, alojamiento y demás que implique el desarrollo de las actividades autorizadas, para lo cual deberá coordinar lo pertinente con el Jefe del Área Protegida, conforme lo establece la Resolución No. 0152 del 24 de abril de 2017 por la cual se modifica la Resolución 245 del 06 de julio de 2012. Para el caso del pago por derecho de ingreso a las Áreas Protegidas, el equipo de trabajo queda exento de acuerdo con el Artículo séptimo de esta misma resolución.
- g. Atender las recomendaciones y la charla de inducción ofrecida por el personal de Parques Nacionales Naturales.
- h. Hacer un buen manejo de los residuos sólidos durante su permanencia, para esto se recomienda llevárselos fuera del Área Protegida una vez termine cada salida de campo.
- i. **Entrega de informes parciales y final**
Con el propósito de socializar los resultados obtenidos, el solicitante deberá entregar constancia de un (01) informe parcial y un (01) informe final obtenido de la investigación, de la siguiente manera: una copia (impresa y una digital) al PNN Tayrona, una copia (digital) a la Dirección Territorial Caribe y una copia (digital) a la Subdirección de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas de Parques Nacionales Naturales. Se deberá entregar el informe final seis (06) meses después contados a partir de la finalización del tiempo otorgado para la ejecución del proyecto

Anexo al informe final se deberá presentar el "Formato para la Relación del Material Recolectado del Medio Silvestre". Lo anterior conforme al artículo 2.2.2.8.3.3 del Decreto 1076 de 2015.
Parques Nacionales Naturales de Colombia podrá solicitar en cualquier momento de la investigación un informe en el caso que lo considere necesario.
- j. **Suministrar información al Sistema de Información en Biodiversidad de Colombia –SIB-**
El solicitante deberá suministrar al SIB la información asociada con los especímenes recolectados, como evidencia de ello se deberá adjuntar al informe final la constancia de entrega emitida por dicho sistema. Lo anterior conforme al artículo 2.2.2.8.3.3 del Decreto 1076 de 2015.
- k. **Divulgación**
El solicitante podrá utilizar el material filmico y/o fotográfico obtenido en el desarrollo de su permiso de recolección solo con fines de investigación y en ningún caso con fines comerciales.

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

Si el material filmico y/o fotográfico obtenido en el marco del permiso individual de recolección va a ser utilizado con fines comerciales, el solicitante deberá tramitar ante Parques Nacionales Naturales el permiso de uso posterior de filmación y fotografía de acuerdo con lo establecido mediante Resolución 396 de 2015, modificada por la Resolución 543 de 2018.

De igual forma, el solicitante deberá dar los créditos correspondientes a Parques Nacionales Naturales en las publicaciones nacionales e internacionales derivadas de los resultados obtenidos en el marco del presente permiso individual de recolección.

PARÁGRAFO PRIMERO: Parques Nacionales Naturales no se hace responsable por accidentes o cualquier incidente que el titular del presente permiso y su equipo de trabajo pudieran tener dentro del Área Protegida autorizada para la investigación, durante el tiempo que contemple el permiso, de conformidad con el artículo 2.2.2.1.13.3 del Decreto 1076 de 2015. **Finalmente, se recomienda al investigador principal y su equipo de trabajo informarse previamente con las autoridades civiles y militares, sobre las situaciones de orden público que puedan influir en el área objeto de estudio.**

PARÁGRAFO SEGUNDO: El incumplimiento de las obligaciones establecidas en el presente artículo, así como de diferente normatividad ambiental que regula la materia, dará lugar a la aplicación de lo previsto en la Ley 1333 de 2009.

ARTÍCULO CUARTO.- El responsable del seguimiento en campo del permiso individual de recolección en el Parque Nacional Natural Tayrona, es el jefe del Área Protegida o a quien se designe. Una vez culminado el tiempo autorizado para las actividades de campo, el jefe del Área Protegida deberá remitir al Grupo de Trámites y Evaluación Ambiental un informe de cumplimiento de las obligaciones y autorizaciones dadas en este acto administrativo e informar de eventuales irregularidades presentadas durante el desarrollo de la fase de campo para iniciar el proceso a que haya lugar. Lo anterior no exime al jefe del Área Protegida de remitir información relacionada durante la ejecución del proyecto cuando se considere necesario o la SGM-GTEA lo requiera.

Lo anterior, conforme a la función esencial del empleo de los Jefes de Área Protegida en lo que tiene que ver con *“Orientar y coordinar la formulación, ejecución y seguimiento de los convenios, acuerdos y proyectos, que conlleve al logro de los objetivos de conservación del Áreas Protegida en articulación con la Dirección Territorial y el Nivel Central, así como realizar las actividades de seguimiento de los permisos, autorizaciones y concesiones otorgadas por la Subdirección de Gestión y Manejo”* (3 Nivel Local- 3.1 Perfiles Nivel Profesional- Descripción de las funciones esenciales) contenida en el Manual Especifico de Funciones y de Competencias Laborales para los empleos de la Planta de Personal de Parques Nacionales Naturales de Colombia adoptado mediante la Resolución 017 del 26 de enero de 2014.

ARTÍCULO QUINTO.- Una vez notificada y en firme la presente Resolución empieza a contabilizarse el término concedido en el artículo primero para el desarrollo del proyecto *“Dinámica del microbioma de *Madracis auretenra* (*Scleractinia: Pocilloporidae*) y respuesta fenotípica de reclutas a estresores ambientales”*, al interior del Parque Nacional Natural Tayrona, lo anterior de conformidad con lo establecido en el artículo 2.2.2.8.5.3. del Decreto 1076 de 2015.

ARTÍCULO SEXTO.- Notifíquese electrónicamente el contenido del presente acto administrativo al señor **JORDAN ESTIVEN RUIZ TOQUICA**, identificado con cédula de ciudadanía No. 1.013.613.746, en atención a la autorización expresa realizada en el numeral 5° *“Notificación de Actos Administrativos”* del Formato de Solicitud de Recolección de Especímenes Dentro del Sistema de Parques Nacionales

✍

“POR MEDIO DE LA CUAL SE OTORGA UN PERMISO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES SILVESTRES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA CON FINES DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA NO COMERCIAL EN EL PARQUE NACIONAL NATURAL TAYRONA – EXPEDIENTE PIR 007-2021”

Naturales, bajo los parámetros establecidos en el artículo 66 y subsiguientes del Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo - Ley 1437 de 2011.

ARTÍCULO SÉPTIMO.- Enviése copias de esta providencia al Parque Nacional Natural Tayrona y a la Dirección Territorial Caribe, a efectos de que se adelanten las actividades de seguimiento, vigilancia y control propias de su competencia.

ARTÍCULO OCTAVO.- El encabezamiento y la parte resolutive de la presente providencia deberán ser publicados en la Gaceta Ambiental de Parques Nacionales Naturales de Colombia para los fines establecidos en los artículos 70 y 71 de la Ley 99 de 1993.

ARTÍCULO NOVENO.- Contra la presente decisión procede el recurso de reposición, el cual podrá interponerse por escrito dentro de los diez (10) días siguientes a la fecha de su notificación, ante la Subdirección de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas de Parques Nacionales Naturales de Colombia, conforme al artículo 76 del Código de Procedimiento Administrativo y de lo Contencioso Administrativo ley 1437 de 2011, en los términos establecidos en el artículo 77 ibidem.

NOTIFÍQUESE, PUBLÍQUESE, COMUNÍQUESE Y CÚMPLASE



EDNA CAROLINA JARRO FAJARDO

Subdirectora de Gestión y Manejo de Áreas Protegidas

Proyectó: *María Fernanda Losada Villarreal - Abogada contratista SGM*
Revisó: *Guillermo Alberto Santos Ceballos - Coordinador GTEA SGM*